

الكيمياء الحياتية التطبيقية



أ.د. ميسون بشير رسام

جامعة صلاح الدين
كلية العلوم

أ.د. دلاور محمد صابر

جامعة صلاح الدين
كلية العلوم

تقديم : أ.د. محمد سليمان مبارك

الجامعة الأردنية
كلية العلوم



الكيمياء

الحياتية التطبيقية

الكيمياء الحياتية التطبيقية

تأليف

أ.د. دلاور محمد صابر أ.د. ميسون بشير رسام

أ.د. محمد سليمان مبارك

الطبعة الأولى

2014



● **الكيمياء الحياتية التطبيقية**

أ.د. دلاور محمد صابر أ.د. ميسون بشير رسام أ.د. محمد سليمان مبارك

الطبعة الأولى 2014

منشورات:

دار دجلة

ناشرون وموزعون



المملكة الأردنية الهاشمية

عمان - شارع الملك حسين - مجمع الفحيص التجاري

تلفاكس: 0096264647550

خلوي: 00962795265767

ص.ب: 712773 عمان 11171 - الأردن

E-mail: dardjlah@yahoo.com

www.dardjlah.com

❖ رقم الإيداع لدى دائرة المكتبة الوطنية (2013/9/3380)

ISBN: 9957-71-384-3

الآراء الموجودة في هذا الكتاب لا تعبر بالضرورة عن رأي الجهة الناشرة

جميع الحقوق محفوظة للناشر. لا يُسمح بإعادة إصدار هذا الكتاب، أو أي جزء منه، أو تخزينه في نطاق استعادة المعلومات، أو نقله بأي شكل من الأشكال، دون إذن خطي من الناشر.

All rights Reserved No Part of this book may be reproduced. Stored in a retrieval system. Or transmitted in any form or by any means without prior written permission of the publisher.

الفهرس

الفصل الأول: الفيتامينات والتميمات الأنزيمية

9	تقديم
11	1-1 المقدمة
17	2-1: تسمية وتصنيف الفيتامينات
18	3-1 تحليل الفيتامينات
23	4-1 الفيتامينات الذائبة في الماء
23	1-4-1 الثيامين
34	2-4-1 الريبوفلافين
48	3-4-1 حامض النكوتك أو نياسين
56	4-4-1 مجموعة فيتامين B ₆ (بريدوكسين)
64	5-4-1 مجموعة فيتامين B ₁₂ (كوبالامين)
71	6-4-1 فيتامين C
86	7-4-1 البيوتين Biotin
93	8-4-1 حامض الفولك pteroyl-L-glutamic acid
100	9-4-1 حامض البنتوتك
105	5-1 الفيتامينات الذائبة في الدهون
105	1-5-1 فيتامين A
114	2-5-1 فيتامينات D
120	3-5-1 التوكوفيرولات (مجموعة فيتامين E)
129	4-5-1 مجموعة فيتامين k
132	6-1 ملاحظات ختامية في تغذية الإنسان
133	7-1 التغذية المثالية
136	9-1 المصادر المعتمدة

الفصل الثاني: الأنزيمات

141	1-2 علم الأنزيمات
-----	-------------------

142	2-2 لمحة تاريخية في علم الأنزيمات
147	3-2 الخصائص العامة للأنزيمات
152	4-2 التصنيف والتسمية النظامية للأنزيمات
156	5-2 أهمية علم الأنزيمات في علم الأغذية
164	6-2 أنزيمات الأكسدة المرجعة Oxidoreductase
167	1-6-2 O- Diphenol Oxidase وتفاعلات الإسمرار في الأغذية
181	2-6-2 أوكسيداز الزانثين Xanthine Oxidase
184	3-6-2 أوكسيداز الكلوكوز Glucose Oxidase
188	4-6-2 أوكسيداز حامض الإسكوريك Ascorbic acid oxidase
164	5-6-2 البيروكسيداز peroxidase
208	6-6-2 الكاتالاز
214	7-6-2 الأنزيم Lipxygenase
220	7-2 الأنزيمات الناقلة Transferases
221	1-7-2 الأنزيمات الناقلة للكايكوسيل Glucosyl transferases, Ec. 2.4
226	2-7-2 ناقلات مجاميع الإسيل Acyltransferase. Ec 2.3
227	8-2 أنزيمات الهيدرولاز (Hydrolases)
229	1-8-2 أنزيمات الليبار
235	2-8-2 أنزيمات التحلل المائي للشحوم القطبية
238	3-8-2 pectinesterases
240	4-8-2 chlorophyllase
241	5-8-2 أنزيمات الفسفاتاز
251	6-8-2 أنزيمات الكلايكوسيداز والكلايكاناز
284	7-8-2 الأنزيمات المحللة للأواصر الببتيدية Peptide hydrolases
312	9-2 أنزيمات الفصل والإضافة Lyases
313	10-2 الايزومرازات Isomerases
314	11-2 الأنزيمات المولدة لمركبات النكهة Flavor
316	12-2 المصادر

الفصل الثالث: الاختمار Fermentation

321	1-3 الإختمار اللاهوائي Anaerobic Fermentation
323	1-1-3: بعض الاختمارات اللاهوائية المتخصصة
323	1-1-1-3: الإختمار الكحولي
343	2-1-1-3 الإختمار اللاكتيكي
357	3-1-1-3 الاختمارات المنتجة لللايزوبروبانول، بيوتانول، حامض البيوتريك أو الاستون
367	4-1-1-3 الإختمار الإختمار الاستوئيني Acetion fermentation
374	5-1-1-3 الإختمار المنتج لحامض البروبيونك
381	6-1-1-3 الإختمار المنتج للكحولات العليا
385	7-1-1-3 إختمار أحماض الثمار
389	8-1-1-3 إختمارات أخرى
395	2-1-3 الإختمار الهوائي (التنفس) والتخليق الحيوي
395	1-2-1-3 أكسدة البيروفات في الأيض الهوائي إلى Acetyl CoA
398	2-2-1-3 أكسدة المركب Acetyl CoA في دورة حامض الستريك (دورة كريبس)
406	3-2-1-3 السلسلة التنفسية والفسفرة التأكسدية
414	4-2-1-3 حساب الطاقة الناتجة بشكل ATP بالتنفس المعتمد على الكلوكوز
418	5-1-1-3 أنظمة الأكسدة النهائية Endoxidation systems
420	6-2-1-3 الإختمارات الهوائية المتخصصة والتخليق الحيوي
446	2-3 المصادر المعتمدة

الفصل الرابع: الشحوم Lipids

451	1-4 المقدمة
451	2-4 ألحوامض الدهنية
455	1-2-4 الخواص الفيزيائية
457	2-2-4 الخواص الكيميائية
459	3-2-4 التسمية Nomenclature
459	3-4 أسيلات الكلسيرول Acyl glycerols
461	4-4 الشموع Waxes

462	5-4 الشحوم الفسفاتية.....
465	6-4 الشحوم السفنكولية Sphingolipids
466	7-4 الشحوم السكرية Glycolipids
466	8-2 إيثرات الكلسيرول
467	9-4 التربينويدات والسترولات Terpenoids and Sterols
468	10-4 وظائف الشحوم.....
471	11-4 البروتينات الشحمية
472	12-4 مقارنة لتوزيع الشحوم في الكائنات الحية
472	1-12-4 الخلايا بدائية النواة Procaryotic cells
474	2-12-4 الخلايا حقيقية النواة Eucaryotic cells
476	13-4 العوامل النشطة في السطوح (عوامل الإستحلاب)
477	1-13-4 آلية عمل المواد النشطة في السطوح (عوامل الاستحلاب)
478	2-13-4 نسبة الخاصية المحبة للماء إلى الخاصية الكارهة له لعوامل الإستحلاب
479	3-13-4 وصف عوامل الاستحلاب
488	4-13-4 طبيعة التأثيرات بين عوامل الاستحلاب ومكونات الغذاء المختلفة.....
492	5-13-4 دور املاح الصفراء بوصفها عوامل إستحلاب في الأمعاء الدقيقة
494	6-13-4 دور عوامل الاستحلاب في الرئة
495	7-13-4 إستخدام عوامل الإستحلاب لتكوين الجسيمات الشحمية
497	14-4 المصادر المعتمدة
498	قائمة بالأشكال
509	قائمة بالجداول
512	المصطلحات المعربة

تقديم

يعاني الدارس للعلوم الطبيعية والتطبيقية من نقص واضح في المكتبة العربية يجعله في حيرة من أمره ويدفعه دفعاً إلى الكتب الأجنبية وخاصة الإنجليزية منها. والعودة إلى الكتاب الأجنبي ليس يسيراً على الكثيرين من طلبة الجامعات العربية، مما يزيد الأمر تعقيداً ويبقي قضايا بالعلم مستغلقة على أذهان الدارسين -وعلم الكيمياء بكل تشعباته هو أحد هذه العلوم التي نلاحظ نقصاً في الكتب العربية منها. وإسهاماً في سد هذا النقص، كان هذا الجهد الكبير والطيب الذي قام به كل من الأستاذ الدكتور دلاور محمد صابر، والأستاذة الدكتورة ميسون بشير رسام في إخراج كتابهما "تطبيقات في الكيمياء الحياتية" إلى حيّز الوجود - ذلك الكتاب الذي يعدّ بحق إضافة هامة إلى المكتبة العربية وموجه بشكل أساس إلى الطلبة الدارسين في كليات العلوم والصيدلة والطب والزراعة. وكلّي أمل في أن يكون هذا الكتاب عوناً لهؤلاء الطلبة في دراساتهم وأبحاثهم.

يحتوي هذا الكتاب على عدد غير قليل من الفصول، مرتبة حسب التسلسل المنطقي للمواد والموضوعات، ويغطي في مجمله المفاهيم الأساسية والمهمة التي يحتاجها الطالب الجامعي سواء في دراسته الدنيا أو العليا بسهولة ويسر. وقد وضع الكتاب بأسلوب سلس يراعي تجنب التكرار الممل الذي قد يدفع الطالب إلى العزوف عن الموضوع ويساعده على فهم المادة العلمية بطريقة واضحة ومنظمة - وفي اعتقادي بأن هذا الكتاب والجهد الذي بذل فيه يتمشى إيجابياً مع الاتجاه لتدريس العلوم الطبيعية والتطبيقية باللغة العربية، وأكاد أجزم بأنه سيثري المكتبة العربية - وآمل بأن يكون هذا الكتاب بما حوى بين طياته من علم ومعرفة لبنة مفيدة في الصرح العلمي العربي، وأن يجد موقعه الذي

يستحقه في المكتبة العربية ، وأن يجد القبول الحسن لدى الدارسين والباحثين وأن يكون إضافة في مجاله للمكتبة العربية - وأود هنا أن أنوه بالجهد الكبير الذي بذله المؤلفان حتى رأى هذا الكتاب النور.

وأسأل الله أن يجعلنا دائماً ممن يستمع القول فيتبع أحسنه. وأن يوفقنا لخدمة دينه وخدمة المجتمع العربي والمسلم.

د. محمد سليمان مبارك

الجامعة الأردنية

كلية العلوم - قسم الكيمياء

عمان 11942

Email: mmubarak@ju. Edu. jo

المقدمة

انطلاقاً منا لتشجيع التأليف و الترجمة وإغناء المكتبة العربية بالكتب المؤلفة، قمنا بتأليف هذا الكتاب ليعمل طلبتنا الأعزاء والمهتمين بمجال الكيمياء الحياتية التطبيقية.

يحتوي كتاب " الكيمياء الحياتية التطبيقية " فصولاً أربعة أولها: يتناول الفيتامينات والتميمات الأنزيمية ويعنى بتصنيفها وتخليقها وخصائصها ودورها الحيوي وانتشارها وأهميتها في تغذية الإنسان. أما الفصل الثاني: فيختص بالأنزيمات من حيث اكتشافها وخصائصها العامة وتسميتها النظامية وأهميتها في علم الأغذية. كما يتناول هذا الفصل أهم الأنزيمات في علم الأغذية وفي الصناعة من حيث تفاصيل التفاعلات التي تحفزها بما في ذلك آليات التحفيز وحركات التفاعل. أما الفصل الثالث: فيتناول أنواع الاختمار في الكائنات المجهرية والظروف الملائمة للإنتاج الصناعي لبعض نواتج الاختمار مع توضيح لآليات التفاعلات اينما أمكن ذلك. والفصل الرابع: يخص موضوع الشحوم ومواد الاستحلاب تركيبها وآلية عملها.

لقد دُونت المعلومات في كتابنا هذا بحيث تكون ملائمة لطلبة الدراسات الأولية والعليا، فهناك سرد لمعلومات أساسية، ومن ثم تفصيل دقيق لموضوعات أخرى فإذا أراد القارئ أن يخوض في دقائق الأمور فهناك العديد من التفاعلات قد ذكرت مع آلياتها وخصائصها الحركية.

يمكن أن يفيد هذا الكتاب طلبة قسم الكيمياء في كليات العلوم وطلبة الأحياء المجهرية الصناعية في قسم علوم الحياة إضافة إلى طلبة كليات الزراعة قسم الصناعات الغذائية، والذين يدرسون كيمياء الأغذية والتخميرات.

كما يستفيد من الكتاب خريجو الكليات المذكورة الموجودين في المعامل الصناعية.

وفقنا الله لدفع عجلة العلم إلى الامام

والله ولي التوفيق.

المؤلفان

الفصل الأول

الفيتامينات

والتميمات الانزيمية

الفصل الأول

الفيتامينات والتميمات الأنزيمية

Vitamins and Coenzymes

1-1 المقدمة:

يقصد بالفيتامين، العامل الغذائي الجوهري الذي يحتاجه الكائن الحي بكميات قليلة والذي ينتج عن غيابه أمراض نقص معينة.

إن الفيتامينات جوهريّة للكائن الحي لأنه يستطيع تخليقها، وهي ضرورية للحياة. وتختلف الحاجة للفيتامينات باختلاف الكائنات الحية. يوضح الجدول 1.1 الفيتامينات التي يحتاجها الإنسان في غذائه ووظائفها الكيميائية الحيوية.

يحصل الإنسان على الفيتامينات من غذائه، وقد تكون موجودة بشكل سلف الفيتامين provitamin كما هي الحالة مع فيتامين D و A.

يستطيع الجسم أن يحول سلف الفيتامين إلى الفيتامين. تمتلك الفيتامينات خواصا كيميائية لكل منها وتظهر تأثيرات متخصصة في العمليات الحيوية ولهذا ينتج عن نقصها خلل في العمليات الأيضية التي تظهر تأثيراتها فيها مما يؤدي إلى ظهور أعراض مرضية، وكمثال البري - بري الناتج عن نقص فيتامين B₁ والبلاغرا الناتج عن نقص فيتامين B₃ (حامض النكتوتيك) وفقر الدم الناتج عن نقص حامض الفولك والعشو الليلي الناتج عن نقص فيتامين A.

يحتاج قسم من الأنزيمات في عملها إلى جزيئات عضوية غير بروتينية تسمى تبعاً لطبيعتها ارتباطها بالبروتين الأنزيمي فإذا كان ارتباطها وثيقاً سميت المجاميع الضميمة (prosthetic groups) وبالعكس تسمى التميمات الأنزيمية (Coenzymes)، تمثل الفيتامينات أو مشتقاتها مجاميع ضميمة أو تميمات

أنزيمية للعديد من الأنزيمات وكمثال يعمل مشتق فيتامين B₃ المسمى (Nicotinamide adenine dinucleotide) بمثابة تميم أنزيمي للعديد من أنزيمات الأكسدة المرجعة (Oxidoreductases) كما يعمل فيتامين B₆ (Pyridoxal) بصيغة المجموعة الضميمة (Pyridoxal phosphate) مع الأنزيمات الناقلة للمجاميع الأمينية (Transaminases) بنقل المجاميع الأمينية من حامض أميني إلى حامض الفاكيتو. وسوف نتطرق خلال هذا الفصل إلى كيمياء وآلية عمل الفيتامينات المختلفة.

جدول 1-1 الفعالة الكيميائية الحياتية للفيتامينات

الفيتامين	الوظيفة الكيميائية الحياتية
الفيتامينات الذائبة في الدهون	تخليق عديدات السكريد المخاطية
فيتامين A Retinol	والكورتيكوستيرويدات
الديهيد فيتامين A (Retinin) فيتامين D	ادراك الضوء. وحدة بناء الصباغ البصرية Optical Pigments للشبكية ارتشاف Resorption
	ايونات الكالسيوم من الأمعاء، يسهم في تنظيم أيض الكالسيوم والفسفور وتكلس العظام
فيتامين E (توكوفيرول)	تأثير مضاد للأكسدة. نقل الإلكترونات في الدورة التنفسية.
فيتامين K	تخليق البروثرومبين نقل الإلكترونات في الدورة التنفسية.
الفيتامينات الذائبة في الماء	
فيتامين B ₁ (ثيامين)	بصيغة بيروفوسفات الثيامين، مجموعة ضميمة لأنزيمات إزالة الكربوكسيل من الحوامض الالف- كيتونية وكمثال الأنزيم pyruvic decarboxylase وللأنزيمات الناقلة من نوع Transketolase
فيتامين B ₂	بصيغة الفلافين أحادي النيوكلوتيد FMN وفلافين ادنين

الوظيفة الكيميائية الحياتية	الفيتامين
ثنائي النيوكلوتيد FMN، مجموعة ضمنية لأنزيمات الفلافين التي تحفز تفاعلات الأكسدة والاختزال.	(ريبوفلافين)
بصيغة نيكوتيناميد أدنين ثنائي النيوكلوتيد NADP ⁺ أو بصيغة نيكوتيناميد أدنين ثنائي النيوكلوتيد المفسفر NADP ⁺ ، تميم انزيمي لأنزيمات الأكسدة المرجعة Oxidoreductases	فيتامين B ₃ (حامض النيكوتك) اونياسين Niacin
بصيغة Cobamide تميم انزيمي في تفاعلات إعادة الترتيب الجزيئي Molecular rearrangements	فيتامين B ₁₂
تفاعلات الهدر كسلة Hydroxylation بصيغة Biocytin لنقل مجاميع الكربوكسيل في تفاعلات الكريكسلة carboxylation	فيتامين C (حامض الاسكوريك) البيوتين Biotin
بصيغة رباعي هيدو حامض الفولك THE تميم انزيمي لنقل ثملات Residues أحادي الكربون.	حامض الفولك
بصيغة تميم الأنزيم Coenzyme A في تفاعلات نقل مجاميع الاسيل	حامض البنثوثك

1-2: تسمية وتصنيف الفيتامينات

تقسم الفيتامينات عادة نسبة إلى ذوبانها إلى مجموعتين:

- الفيتامينات الذائبة في الماء مثل مجموعة فيتامين B وفيتامين C
- الفيتامينات الذائبة في الدهون مثل فيتامين A و D و E و K أن هذا التقسيم اعتباطي ولكنه مفيد نظرا لأن خاصية الذوبان تحدد بعض الخواص التحليلية والحياتية وكمثال وجود الفيتامينات في الأغذية، قدرة الكائن الحي على تخزينها، الطرق الممكنة لعزلها، استخلاصها من مصادر طبيعية ومبدأ طرق

فصلها وتعيينها. يوضح الجدول 1-2 تسمية الفيتامينات المعتمدة من قبل الاتحاد العالمي للكيمياء الصرفة والتطبيقية IUPAC والتسمية الشائعة والأسماء القديمة.

3-1 تحليل الفيتامينات

تقسم الطرق المستخدمة للكشف عن الفيتامينات وتعيينها إلى:

جدول 1-2 تسمية الفيتامينات

التسمية المعتمدة من قبل IUPAC	التسمية الشائعة	الأسماء القديمة
رتنول (Retinol)	فيتامين A	الفيتامين المضاد للحمج (Anti-infection)
اركوكالسفرول (Ergocalciferol)	فيتامين D ₂	الفيتامين المضاد للكساح
كولكالسفرول (Cholecalciferol)	فيتامين D ₃	(Anti-rachitic)
توكوفيرولات (Tocopherols)	فيتامين E	الفيتامين المضاد للعقم
لا يوجد قرار رسمي	فيتامين K	الفيتامين المضاد للنزف، فيتامين التجلط، عامل البروثرومبين
الثيامين (Thiamine)	فيتامين (B ₁)	الفيتامين المضاد لالتهاب

جدول 1-2

التسمية المعتمدة من قبل (IUPAC)	التسمية الشائعة	الأسماء القديمة
	انيورين (Aneurin)	العصب (Anti-neuritic) الفيتامين المضاد للبري- بري
الرايبوفلافين (Riboflavin) النيكوتين أميد	فيتامين (B ₂) لاكتوفلافين نياسين (Niacin) حامض النيكوتك، اميد حامض النيكوتك	الفيتامين الاصفر فيتامين pp العامل pp
لا يوجد قرار رسمي	بيريدوكسين (pyridoxin)	فيتامين B ₆
حامض البنتوثك (pantothenic acid)	حامض البنتوثك	
بيوتين (Biotin)	بيوتين	فيتامين H
لا يوجد قرار رسمي	حامض الفولك (Folic) (pteroylglutamic acid) كوبالامين، فيتامين B ₁₂	
حامض الاسكوربك	فيتامين C	الفيتامين المضاد للاسقربوط

أ. الطرق الكيميائية: وتعتمد على تفاعلات متخصصة للطبيعة الكيميائية للفيتامينات.

ب. الطرق الفيزيائية: تعيين بعض الثوابت وكمثال الانطفائية Extinction لقمة طيف الامتصاص.

جـ. الطرق الحياتية: ويمكن التكهن بأن الطرق الكيميائية غالباً ما تتأثر بوجود مواد أخرى مقارنة بالتركيب الكيميائي للفيتامين المراد تعيينه ولكنها لا تمتلك فعالية حياتية. إن استخدام الطرق الكيميائية محدود بطبيعة الحال على الرغم من أن الكروماتوكرافية وكمثال كروماتوكرافية الامتزاز تسمح بإزالة بعض المواد غير المرغوب فيها. أما استخدام الطرق الفيزيائية لتعيين الفيتامينات فإنه يتطلب تنقيتها وكمثال عند قياس الامتصاص الضوئي.

غالباً ما تستخدم اختبارات إضافة المعيار Standard addition لتعيين الكيميائي أو الفيزيائي الكيميائي للفيتامينات حيث تضاف كمية معلومة من الفيتامين إلى النموذج ويجب أن تكون الكمية المضافة مقارنة إلى الكمية الموجودة في النموذج، ثم يتم تعيين الفيتامين في النموذج الرئيسي والنموذج المضاف إليه المعيار مع مراعاة إجراء الاختبار في الوقت ذاته وتحت الظروف نفسها.

إن الطرق الحياتية لتعيين الفيتامينات لا تزال الطرق الأساسية لتعيين طبيعة وكمية الفيتامين ويمكن إجراؤها على الحيوانات بمثابة اختبارات انتقائية prophylactic أو شافية Curative وكمثال بصيغة اختبار النمو، اختبار الكساح Rickets، اختبار الإسقريوط أو اختبار البروثرومبين، ومن مساوئ الطرق الحياتية (تجارب الحيوانات) الزمن الطويل الذي تستهلكه والنسبة العالية للخطأ (30%) واستهلاك كميات كبيرة من الفيتامينات، ويستخدم حالياً على نطاق واسع الاختبارات الحياتية المجهرية وخصوصاً لمجموعة فيتامين B إذ تستخدم بعض الأحياء المجهرية مثل البكتيريا أو الخمائر Yeasts والاعفان Moulds التي تحتاج إلى هذه الفيتامينات لنموها وتنشيطها عند إضافة الكمية الملائمة لها. وتتناسب كمية الفيتامين المضافة مع الزيادة في أعداد الخلايا.

إن الطرق الحياتية المجهرية للاختبار أكثر خصوصية من الطرق الفيزيائية الكيميائية وتتطلب وقتاً أقصر ومواد أقل.

لقد كانت الوحدات المستخدمة لقياس تركيز الفيتامينات هي الوحدات الدولية (I.U.) وتحدد هذه بالطرق الحياتية (باستخدام الحيوانات) في ظروف معيارية دقيقة، إلا أنه بعد معرفة التراكيب الكيميائية للفيتامينات وإمكانية تحضيرها بصيغة نقية أصبح من الممكن حساب الكمية الحقيقية للفيتامين، الموجودة في الوحدة العالمية.

جدول 1-3: محتوى بعض الفيتامينات في الأغذية، تمثل الأرقام ما موجود في وزن 100 غم من الغذاء القابل للأكل (المصدر 14)

فيتامين A l.u	ثيامين mg	ريبوفلافين mg	نياسين mg	حامض الاسكوربيك mg	الغذاء
0	0.24	0.92	3.5	كميات ضئيلة	اللوز
30	.330	.130	.90	2	الجوز
40	.30	.020	.10	2	التفاح
20	.020	.040	.10	4	العرموط (مع القشر)
2700	.030	.040	.60	10	المشمش
1330	.020	.050	.01	7	الخوخ
190	.050	.060	.70	10	الموز
صفر	0.55	0.12	4.3	صفر	طحين . الحنطة (الاسمر)
صفر	0.08	0.06	1.0	صفر	طحين الحنطة (الأبيض)
صفر	0.11	0.01	1.0	صفر	الرز المطبوخ

فيتامين A I.u	ثيامين mg	ريبوفلافين mg	نياسين mg	حامض الاسكوربيك mg	الغذاء
صفر	0.12	0.05	3.1	صفر	الشعير
420	0.08	0.08	0.5	128	الفلفل الأخضر
130	0.05	0.05	0.3	47	اللهانة
60	0.11	0.10	0.7	78	القنبيط (الزهرة)
330	0.06	0.06	0.3	6	الخنس
صفر	0.05	0.02	0.5	3	جوز الهند (مبشور)
120	0.74	0.28	3	—	البزاليا (جافة)
50	0.31	0.15	2.0	—	الحمص
20	0.07	0.06	0.6	صفر	العدس
				صفر	البيض (كاملا)
0	0	0.27	0.1	صفر	البيض (البياض)
1180	0.10	0.29	0.1	0	البيض (الصفار)
80	0.06	0.05	0.4	2	التين
70	0.09	0.03	0.2	17	الأناناس
80	.040	.020	.20	38	كريب فروت
250	.030	.030	.50	6	اللانجاص
100	.050	.030	.30	4	العنب
900	.060	.040	.70	23	الطماطا البندورة
20	.040	.020	.10	53	الليمون الحامض
420	.060	.020	.10	31	اللانكي
200	.100	.040	.40	50	البرتقال

فيتامين A l.u	ثيامين mg	ريبوفلافين mg	نياسين mg	حامض الاسكوربيك mg	الغذاء
كميات ضئيلة	.100	.040	.71	20	البطاطا (مشوية بقشرها)
140	0.03	0.17	0.1	1	حليب البقر
43900	0.25	3.26	13.6	31	كبد البقر
					الكلاوي
690	0.51	2.42	7.4	15	غنم
690	0.36	2.55	6.4	15	بقر
كميئات ضئيلة	1.10	0.46	4.2	3	الفطر
40	0.03	0.04	0.2	10	البصل
300	كميات ضئيلة	0.1	0.1	7	البقدونس
3300	-	-	-	صفر	الزبد

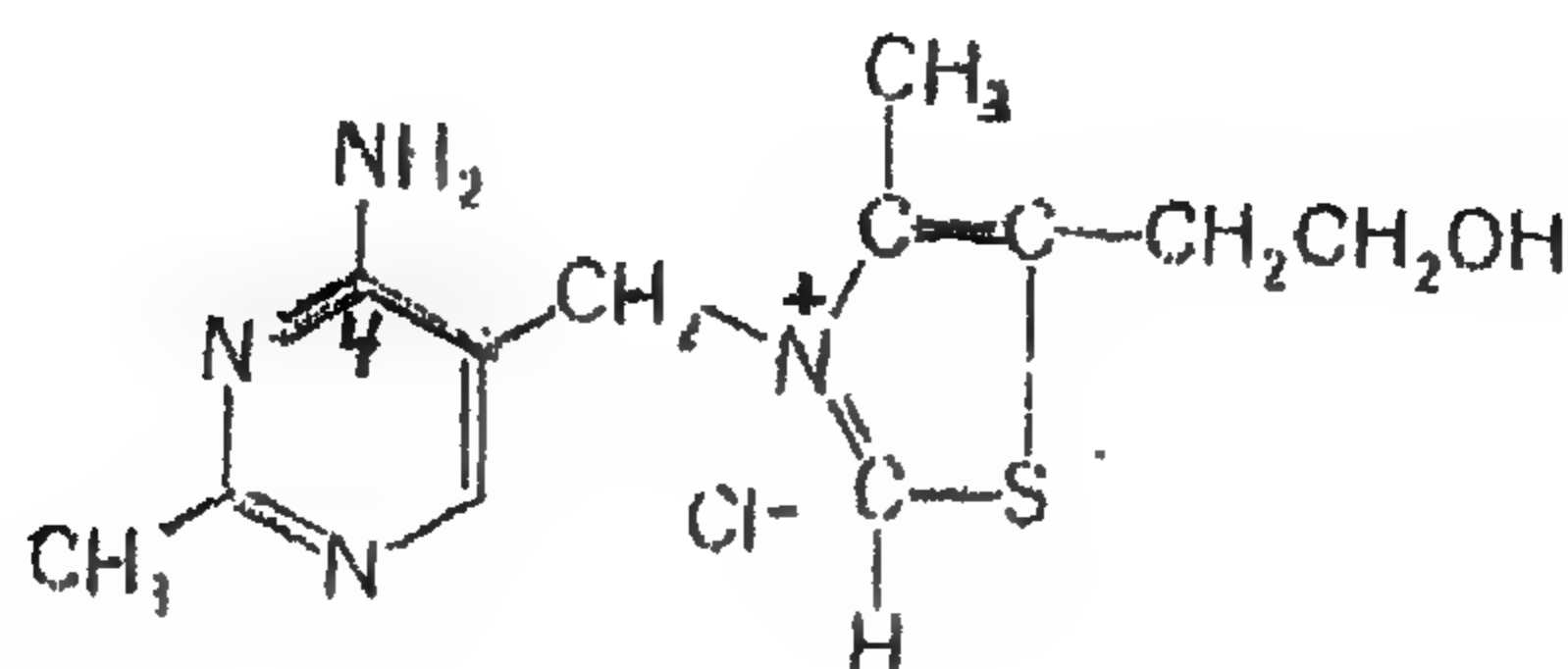
1-4 الفيتامينات الذائبة في الماء

وتتضمن مجموعة فيتامين B وحمض الإسكوربيك (فيتامين C) وحمض الفوليك والبيوتين والنكوتين أميد.

1-4 الثيامين (Thiamine)

وهو مشتق لكل من البريميدين والثايزول. ترتبط ذرة الكربون (رقم 4) للبريميدين بمجموعة أمين وتلعب حلقة الثايزول دورا هاما في التفاعلات التي

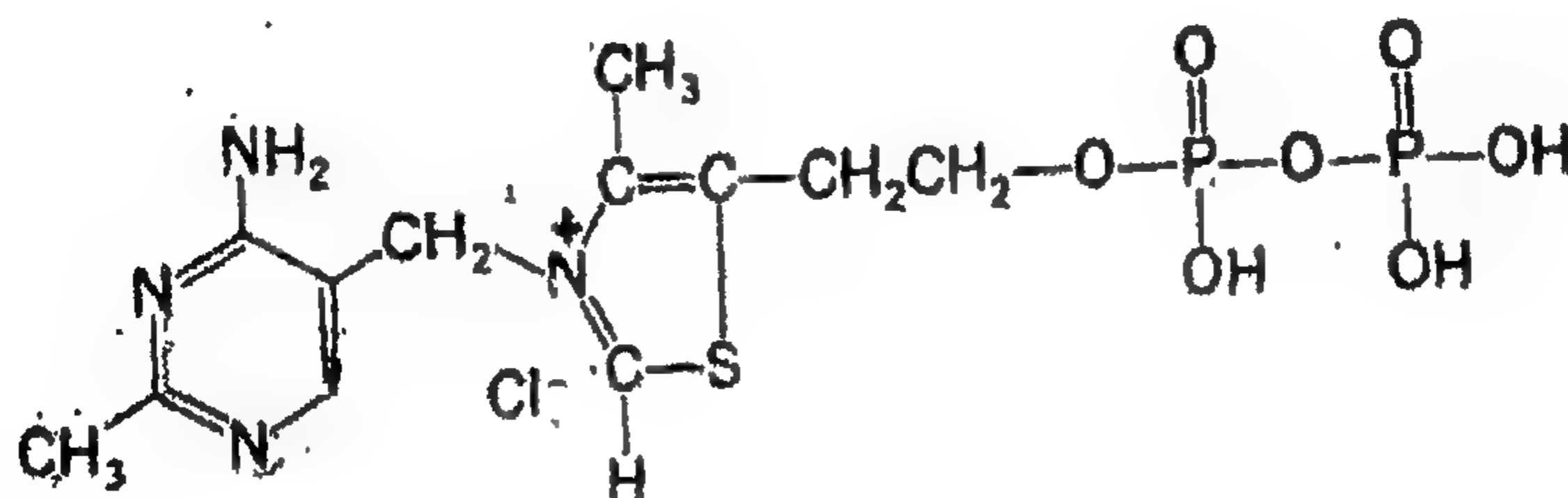
يدخل فيها الثيامين بصيغته الفعالة كما سنوضح ذلك فيما بعد.



Thiamine- HC_1

1-1-4-1 وجوده

الثيامين واسع الانتشار في المملكة الحيوانية والنباتية إذ يوجد في الرز والحبوب والخضروات والبطاطا والخمائر واللحوم والحليب.. الخ، (جدول 3-1) يوجد الفيتامين بصورة حرة أو بشكل ثنائي الفسفات (كما في الخمائر) ويسمى عندئذ بيروفسفات الثيامين (Tpp) (Coccarboxylase) تستطيع النباتات فقط تخليقه بصورة تامة بينما تحتاجه جميع الحيوانات عدا المجترات.



Thiamin pyrophosphate (Tpp)

(coccarboxylase)

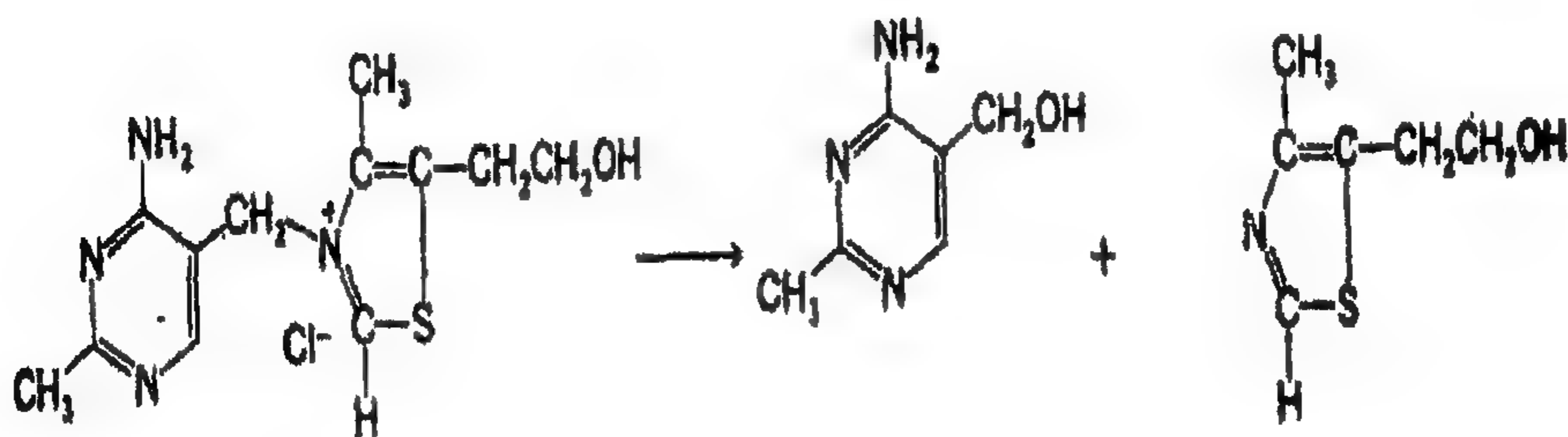
1-1-4-2 الخواص الكيميائية والفيزيائية

يتبلور هيدروكلوريد الثيامين بشكل بلورات أحادية الميل Monoclinic عديمة اللون ذات درجة انصهار 250°C ، ورائحة مميزة ومذاق مر بعض الشيء.

تكون هذه البلورات ثابتة بوجود الأوكسجين الجوي وهي شديدة الذوبان في الماء وقليلة الذوبان في الكحول وغير ذائبة في الايثر ومذيبات الدهون الأخرى.

يكون هيدروكلوريد الثيامين في الماء محلولاً شديداً الحامضية ويمتلك المحلول ذو التركيز 5% رقم هيدروجيني 03.5 يكون المحلول الحامضي لهيدروكلوريد الثيامين ذو الرقم الهيدروجيني الأقل من 5.0 ثابتاً نوعاً ما تجاه الحرارة والأكسدة ويظهر قمتي امتصاص في المنطقة فوق البنفسجية عند 235 و267 نانوميتر.

يتلف محلول هيدروكلوريد الثيامين ذو الرقم الهيدروجيني 5.0 أو أكثر عند تعقيمه بالموصدة Autoclave كما يتلف بالغليان أو حتى بالخبز في درجة حرارة الغرفة إذا كانت PH المحلول 7.0 أو أكثر ويمكن توضيح تأثير المعاملة الحرارية بالمعادلة 1-1 والتي توضح كسر جسر المثلين في الفيتامين وتحويله إلى مشتق الثايزول ومشتق البريميدين.



vitamin B₁

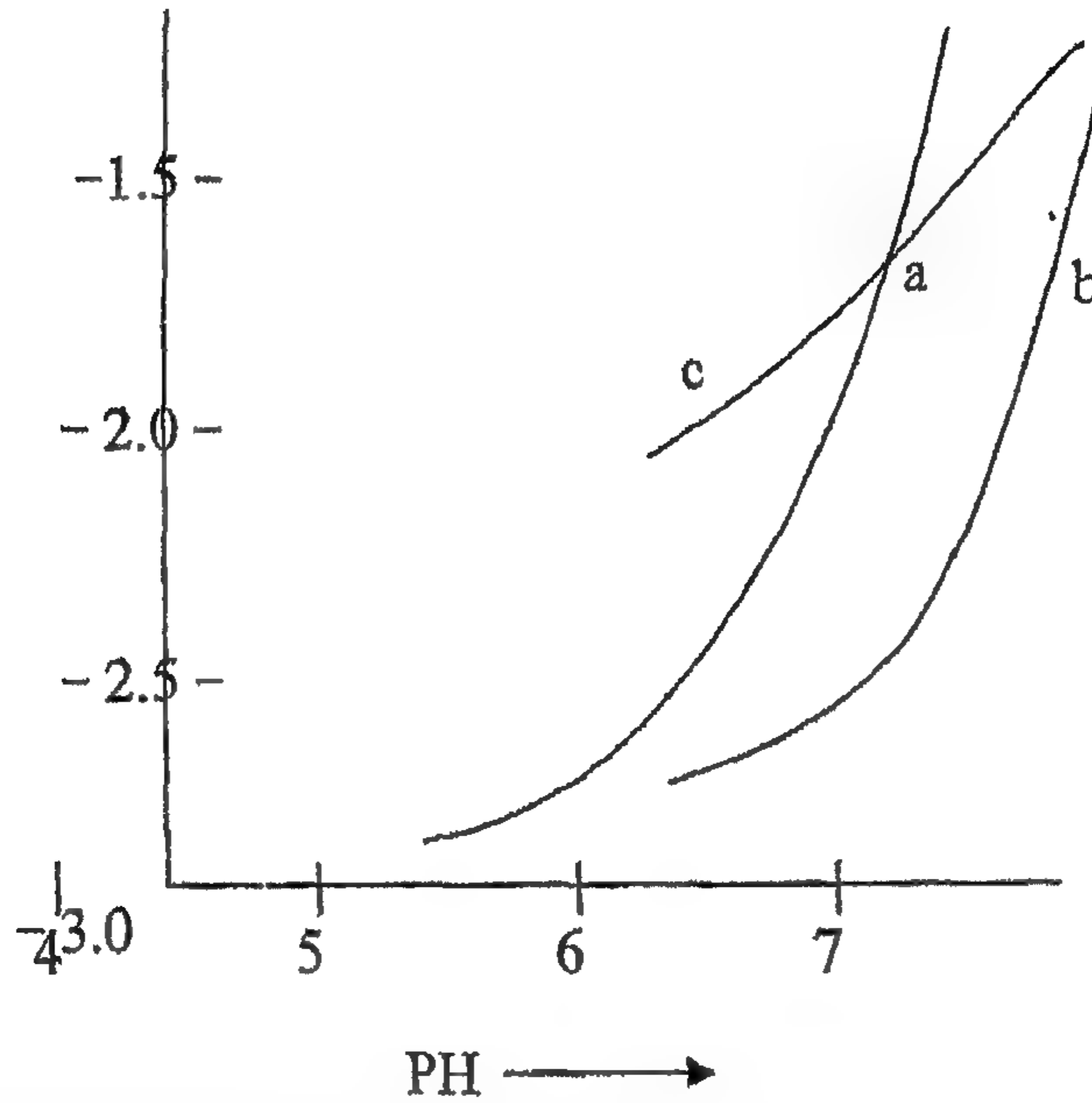
مشتق البريميدين

مشتق الثايزول

وبصورة عامة تعتمد ثبوتية الثيامين في محلوله على الرقم الهيدروجيني (شكل 1-1) والصيغة الجزيئية.

يوضح الشكل 1-1 بأن ثابت سرعة فقدان فعالية الثيامين يزداد بازدياد الرقم الهيدروجيني سواء تمت دراسة الثيامين النقي في درايء الفسفات أو الثيامين

الموجود في طحين القمح أو الشوفان أو بيروفسفات الثيامين الموجود في الطحين كما أن المجاميع المحبة للنواة (المجاميع النيوكليوفيلية) مثل OH^- و HSO^- تؤدي إلى شطر الثيامين إلى جزئي الثايزول والبريميدين وتكوين ثلاثة مركبات كما في المعادلة 2.1.



شكل 1 - 1 سرعة فقدان فعالية الثيامين في القيم المختلفة للرقم الهيدروجيني

(a) محلول الثيامين في داريء الفسفات.

(b) الثيامين الموجود في طحين القمح أو الشوفان.

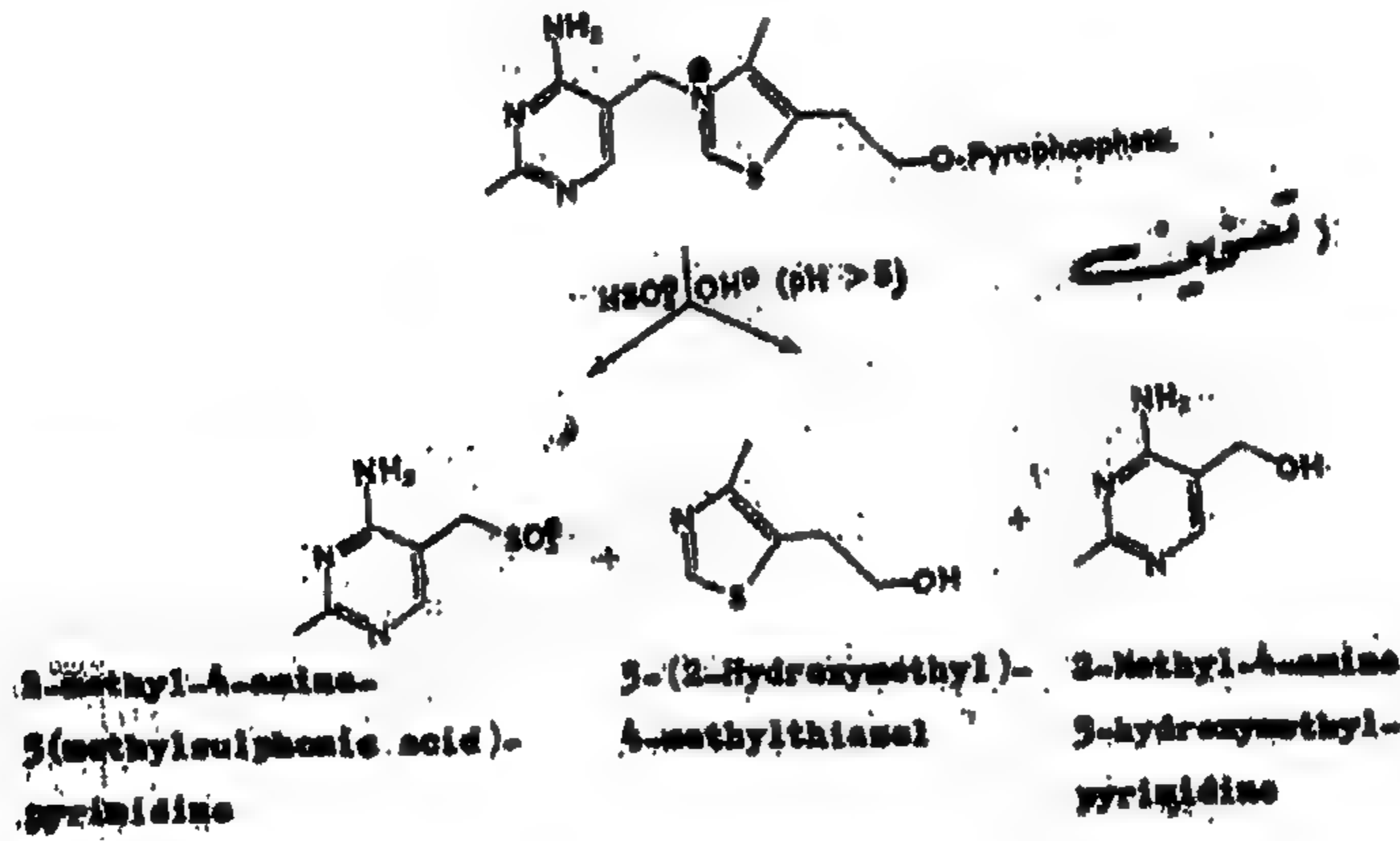
(c) بيروفسفات الثيامين في الطحين.

يؤدي خزن الأغذية إلى فقدان الثيامين وتختلف النسبة المئوية لتلفه باختلاف الأغذية ودرجة حرارة الخزن كما في الجدول (1-4).

جدول 1-4 فقدان الثيامين عند تخزين الأغذية لمدة 12 شهر

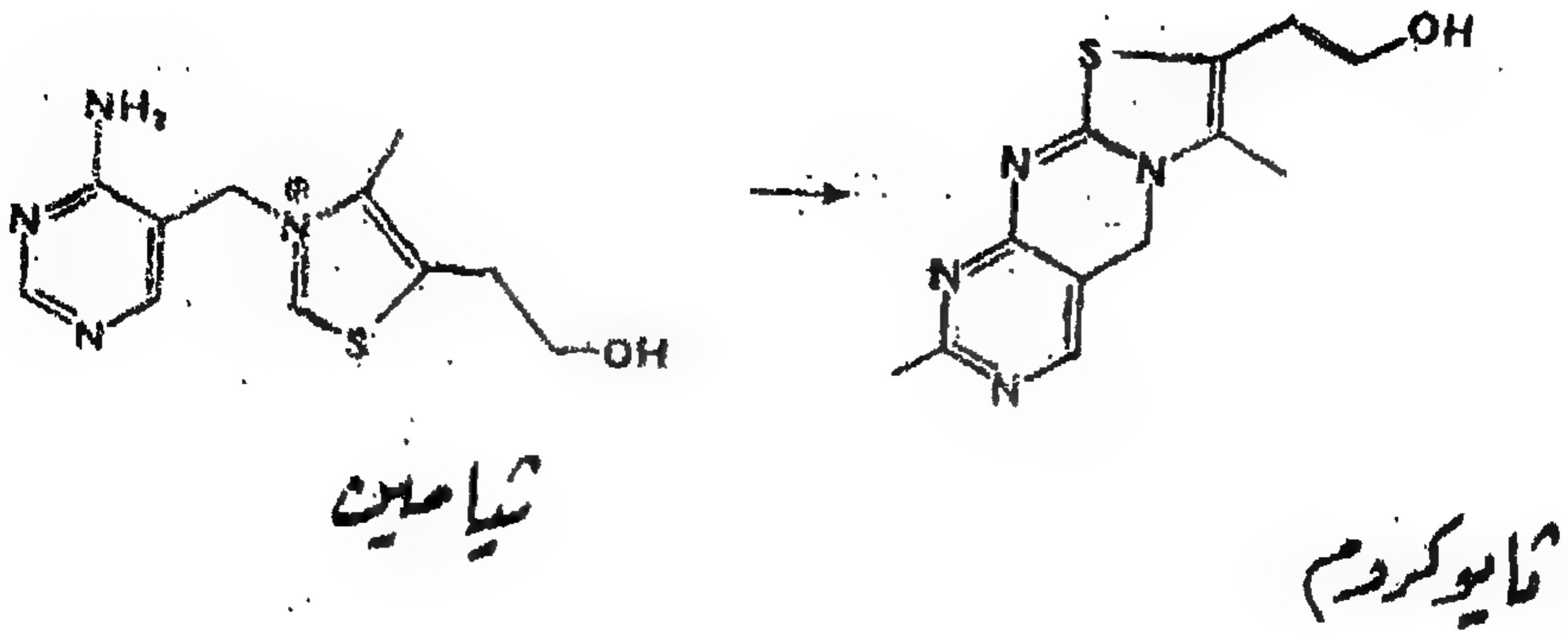
نوع الغذاء	النسبة المئوية لفقدان الثيامين
	38°م
	1.5°م
المشمش	65
عصير البرتقال	22
البازلاء	32
الباقلاء الخضراء	92
عصير الطماطة	40
	24
	صفر
	صفر
	صفر

المجاميع المحبة للنواة مثل (HSO₃) أو (-OH) تؤدي إلى هدم الثيامين وتكوين مركبات مختلفة. (انظر المعادلة (1 - 2))



يؤكسد الثيامين في محلول شديد القاعدية بواسطة سيانيد الحديد Ferricyanide إلى الثايوكروم Thiochrome المتألق Fluorescent ويستغل هذا التفاعل لتقدير الفيتامين (انظر المعادلة (1 - 3))

تعادل الوحدة العالمية (lu) للثيامين 3 مايكروغرام منه.



يعمل النترت على تثبيط الفيتامين ربما نتيجة تفاعله مع مجموعة الامينو في حلقة البريميدين.

1-4-1-3 الثيامين في الأغذية؛

تعتمد حاجة الإنسان اليومية للثيامين على مكونات الغذاء. فتزداد بزيادة المواد الكربوهيدراتية وتنخفض بزيادة الدهون. وإذا كانت التغذية متزنة احتاج الإنسان البالغ 1.5 ملغم ثيامين.

يكون الثيامين ثابتاً في الطهو الاعتيادي وعند تغليب الخضراوات واللحوم، إما غلي الحليب فإنه يفقده محتواه من الفيتامين وتعتمد الخسارة على فترة الغليان ووجود الهواء بصورة خاصة.

وعلى الرغم من انتشار فيتامين B₁ بصورة واسعة في الطبيعة إلا أن الإنسان لا يتناوله دائماً بكميات كافية حتى في البلدان التي تكون التغذية جيدة فيها والسبب في ذلك لا يمكن في عدم وجود الكميات الكافية من الفيتامين في الغذاء ولكن لتحول الإنسان إلى الأغذية الحاوية على كميات أقل من الثيامين. ومن الأسباب المختلفة لذلك هي زيادة استهلاك الخبز الأبيض والأغذية المصنوعة

من الطحين الأبيض عوضاً عن استخدام الخبز الأسمر، قلة استهلاك الحبوب وزيادة تناول السكريات إضافة إلى انخفاض حجم الوجبة لانخفاض المجهود العضلي للإنسان. ونظراً لعدم خزن فيتامين B₁ في جسم الإنسان، يمكن أن تؤدي هذه التغيرات في الأغذية إلى شحة الفيتامين.

4-1-4-1 تعيين الثيامين

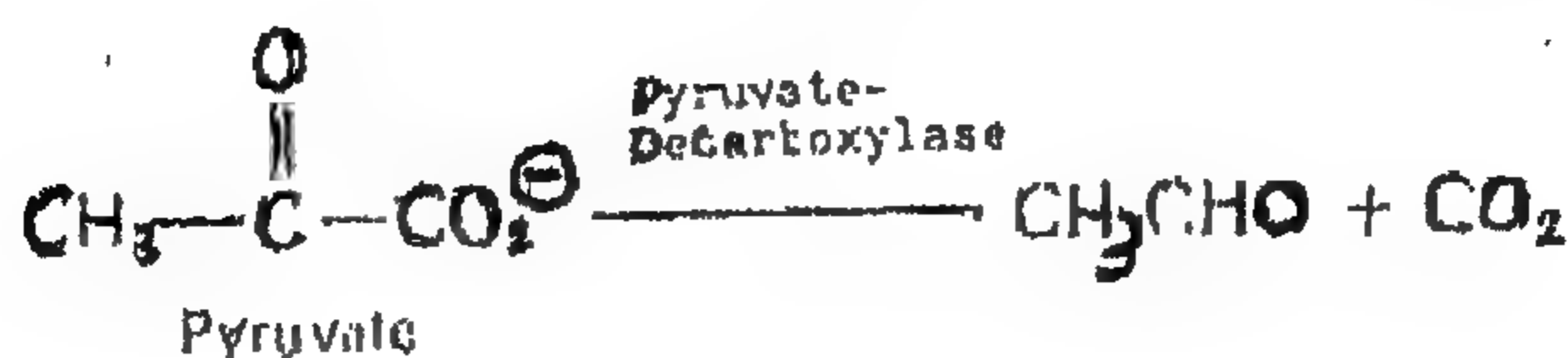
يتم تعيين الثيامين كيميائياً أو بالطرق الفيزيائية الكيميائية وذلك بتعيين تألق الثايوكروم (ناتج أكسدة الثيامين) في المنطقة فوق البنفسجية أو بتفاعلات صبغة الازو Azo.

ويمكن تعيين فيتامين B₁ كذلك بواسطة الأحياء المجهرية ذلك لأن فيتامين B₁ يعد عامل نمو لها وكمثال استخدام العفن *phycomyces*.

(اختبار *phycomyces* = زيادة الوزن الجاف للعفن عند وجود كمية ثابتة من فيتامين B₁) وقد تستخدم كائنات مجهرية أخرى مثل *Lactobacillus fermentus*. *Neurospora crassa* إلا أن هذه الطرق تفتقر إلى الخصوصية وتفضل الطرق الكيميائية أو الفيزيائية الكيميائية على استخدام الحيوانات أو الأحياء المجهرية.

4-1-5-1 الفعالية الحياتية

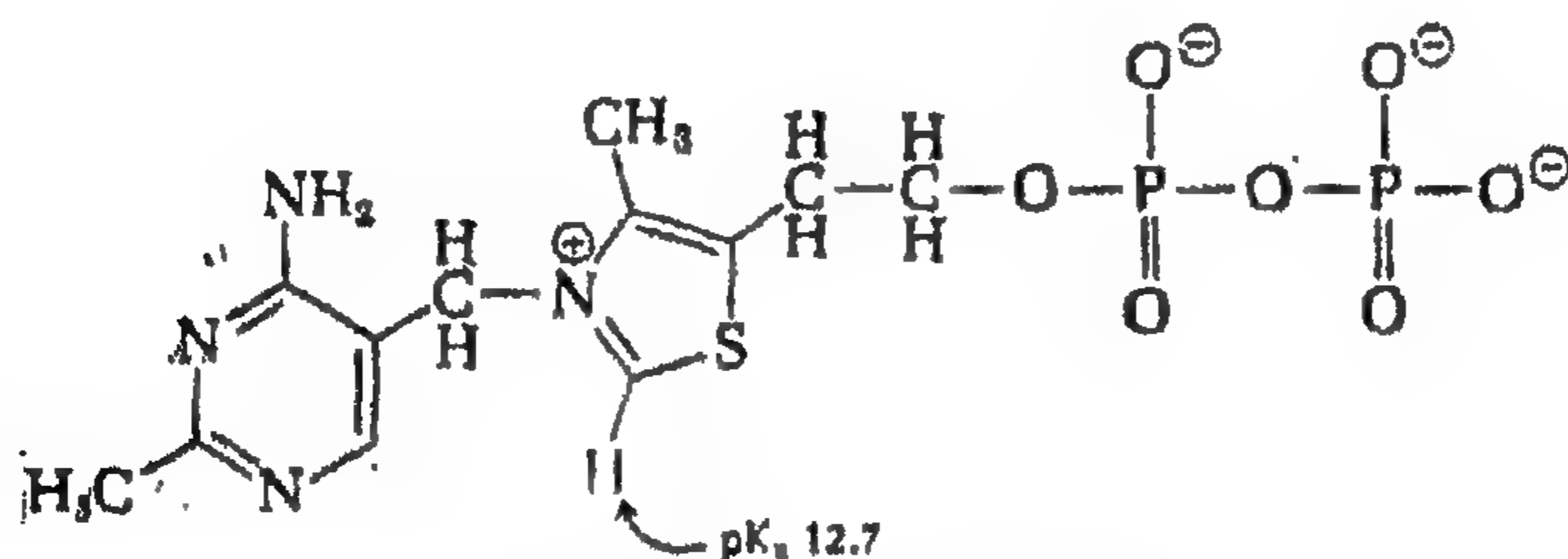
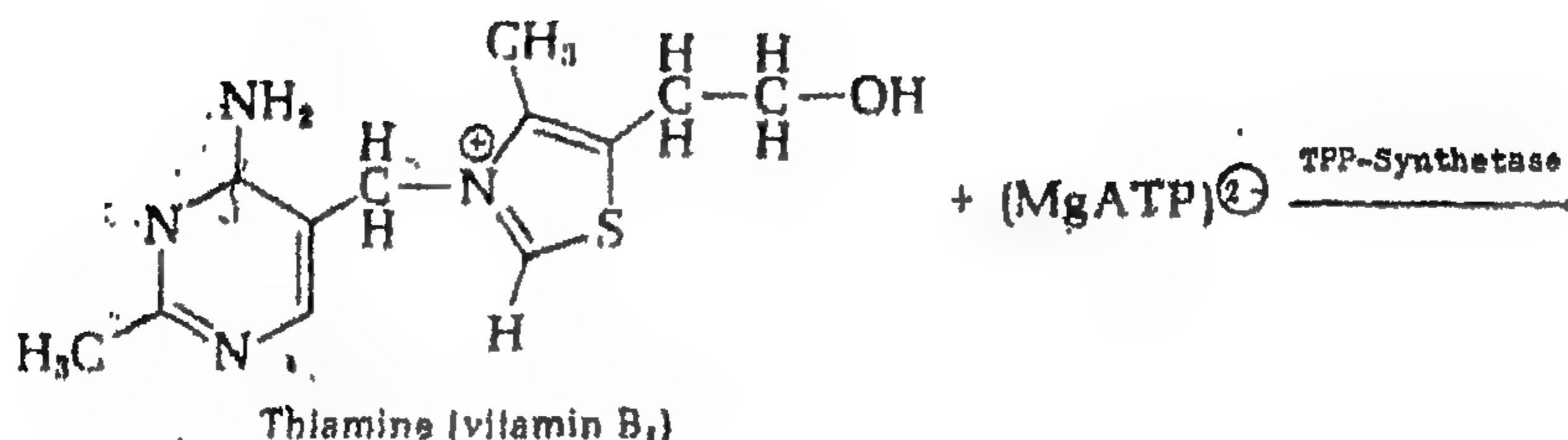
يمثل Tpp التميم الأنزيمي للأنزيمات Transketolase و pyruvate decarboxylase و Keto acid dehydrogenase - فمثلاً تشتمل عملية التخمير الكحولي في الخمائر على تحويل البيروفات إلى استيالدهيد و CO₂ بوجود الأنزيم pyruvate Mg⁺², Tpp, decarboxylase



الصيغة الفعالة للثيامين هي بيروفسفات الثيامين (Tpp).

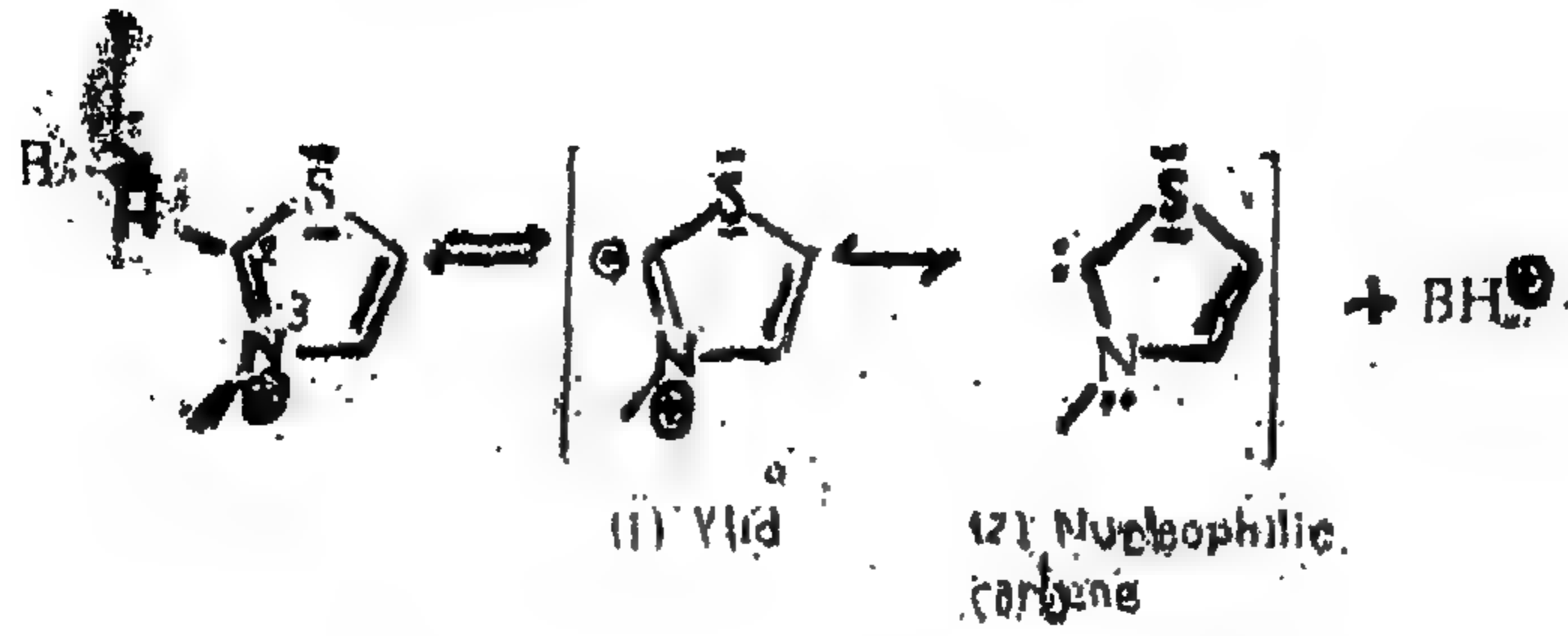
يتكون Tpp من الثيامين والبيروفسفات (الناشئة من ال ATP).

يحفز التفاعل الأنزيم Tpp synthetase



(4-1)

يمكن الاستدلال على خواص التميم الأنزيمي (Tpp) التحفيزية من النتروجين الرباعي لحلقة الثايزول. يمثل هذا النتروجين خوص للالكترونات يعزز حموضة الهدرجين على ذرة الكربون رقم 2 ذات قيمة $pK_a = 12.7$. يؤدي إزالة هذا البروتون (المعادلة 1 - 5) إلى تكوين الكربأنيون Carbanion الذي يثبت بالنتروجين الرباعي وربما بعدم تموضع Delocalization الزوج الالكتروني للكربأنيون واشغاله الاوربتالات (d) الخالية لذرة الكبريت المجاورة. يوجد تركيباً رنين للكربأنيون كما في المعادلة (1 - 5).

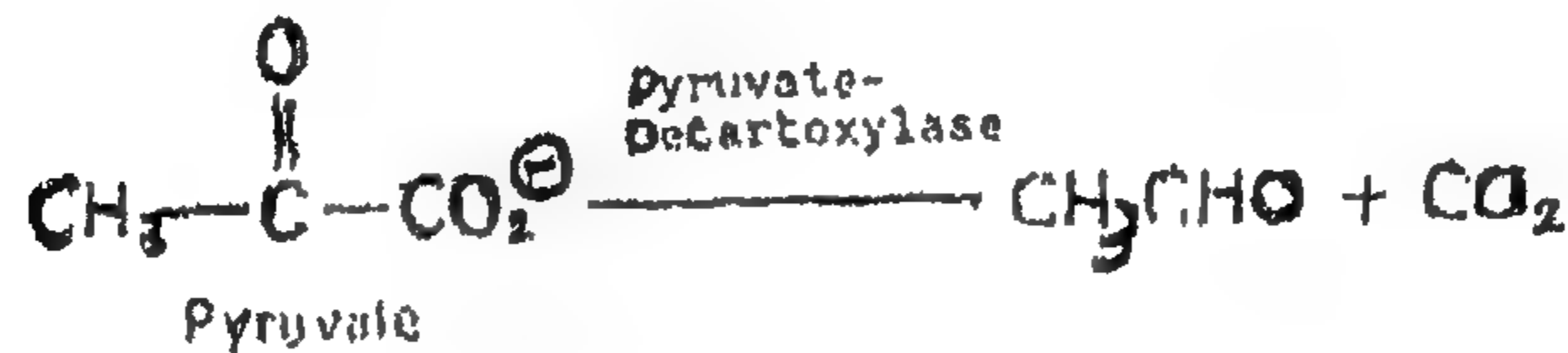


(5 -1)

تشتمل تفاعلات المركب Tpp على تكوين أو شطر أصرة الكربون مجموعة الكربونيل. تسمى تفاعلات الأصرة: تفاعلات التكاثف - الفا (-α condensations) كما تسمى تفاعلات شطرة الأصرة الانشطارات الفا (-α Cleavages) تكون هذه التفاعلات تأكسدية أو غيرتأكسدية، وتتطلب التفاعلات المؤكسدة FAD أو NAD^+ أو كليهما.

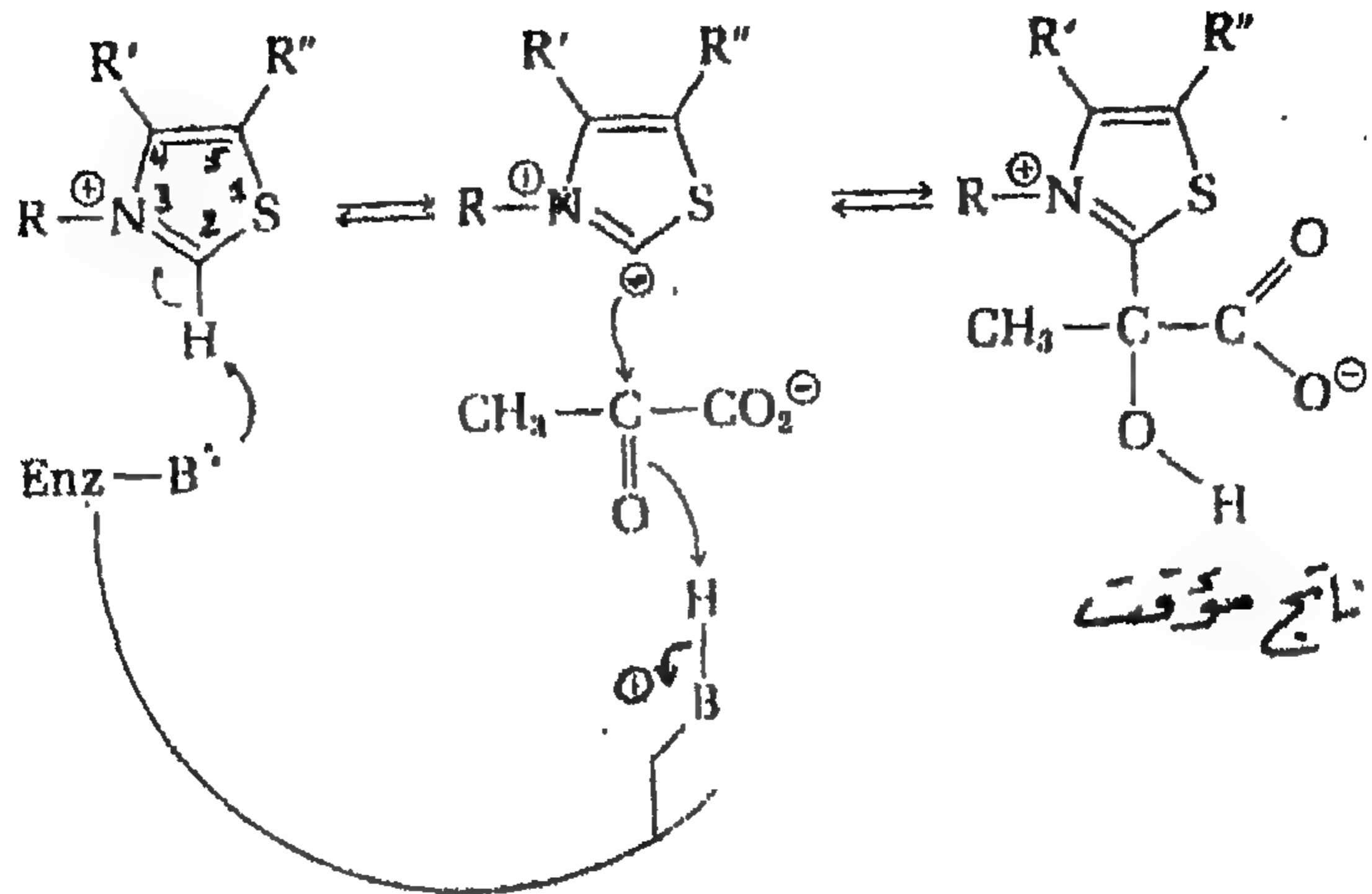
إزالة الكربوسيل غير التأكسدية:

يحول أنزيم الخميرة "مزيل كربوكسيل البيروفات" pyruvate decarboxylase الركيزة Substrate بيروفات pyruvate إلى استالدهيد وثاني أكسيد الكربون

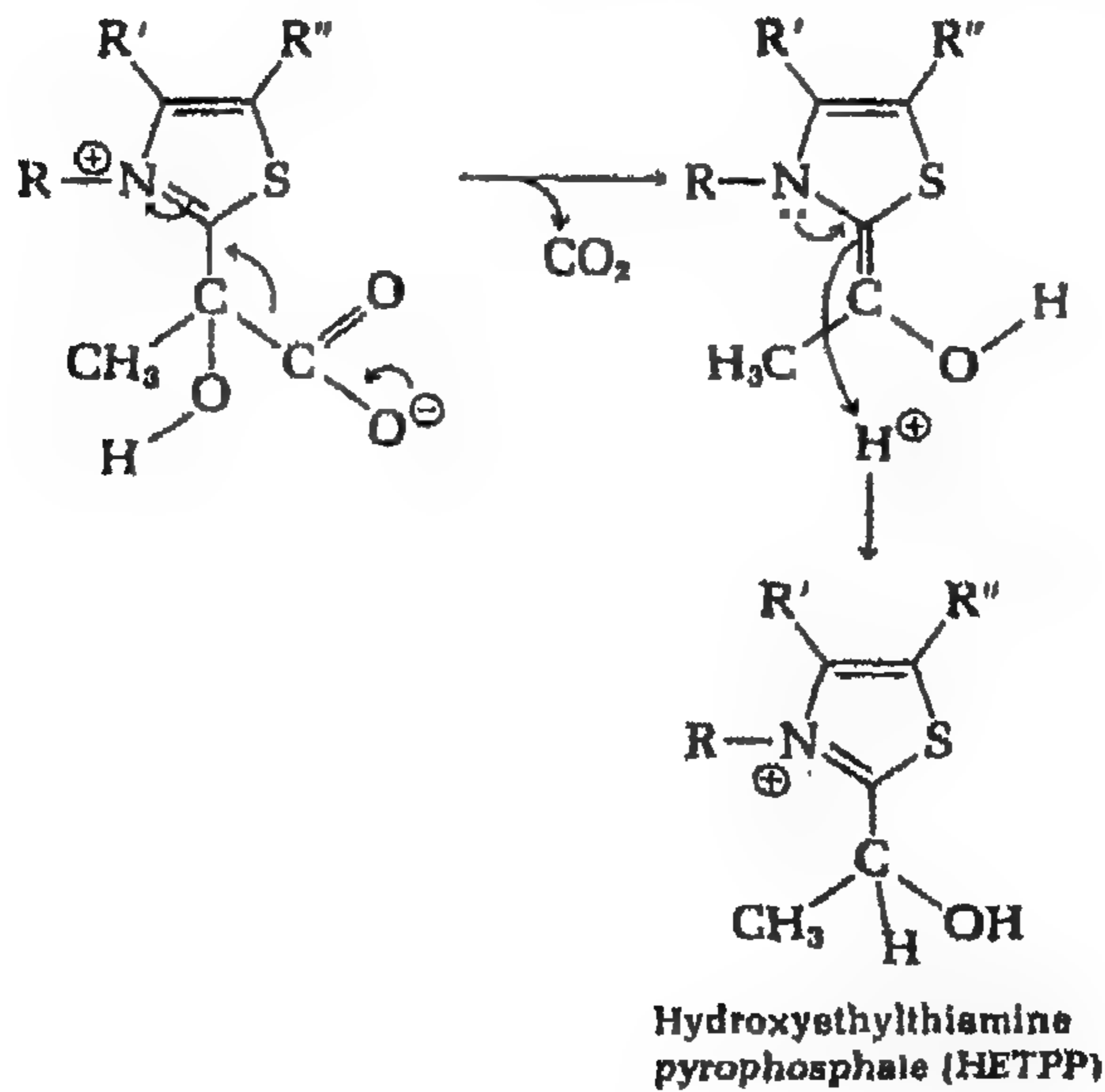


(6 -1)

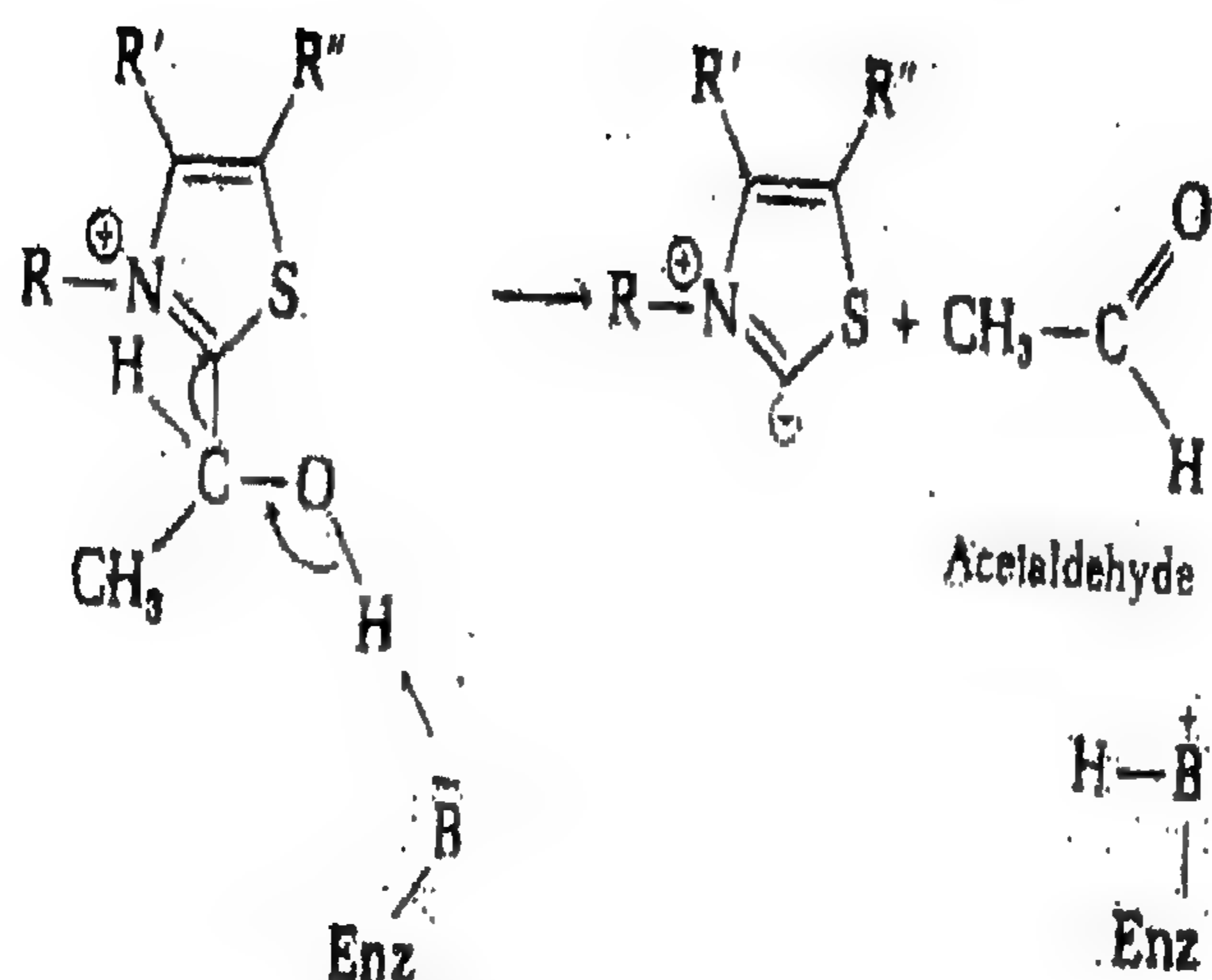
تكون الخطوة الأولى للتفاعل هجوم الكاربانيون في الموقع C.2 للمركب Tpp على مجموعة الكيتو للبيروفات (معادلة 1-7):



يتبع ذلك إزالة الكربوكسيل المصاحبة لتدفق الإلكترونات تجاه النتروجين الرياعي. إن فقدان ثاني أوكسيد الكربون (CO_2) يؤدي إلى تكوين Hydroxyethylthiamine pyrophosphate (HETPP)



ويمكن حصول التفاعل دون مساعدة الأنزيم إلا أن سرعته بطيئة جداً مقارنة بالتفاعل الأنزيمي. في المرحلة الأخيرة للتفاعل يحذف الأنزيم هيدروجين مجموعة الهيدروكسيل للمركب HETpp وتتدفق الإلكترونات تجاه النتروجين الرباعي ويتكون الاستالدهيد:



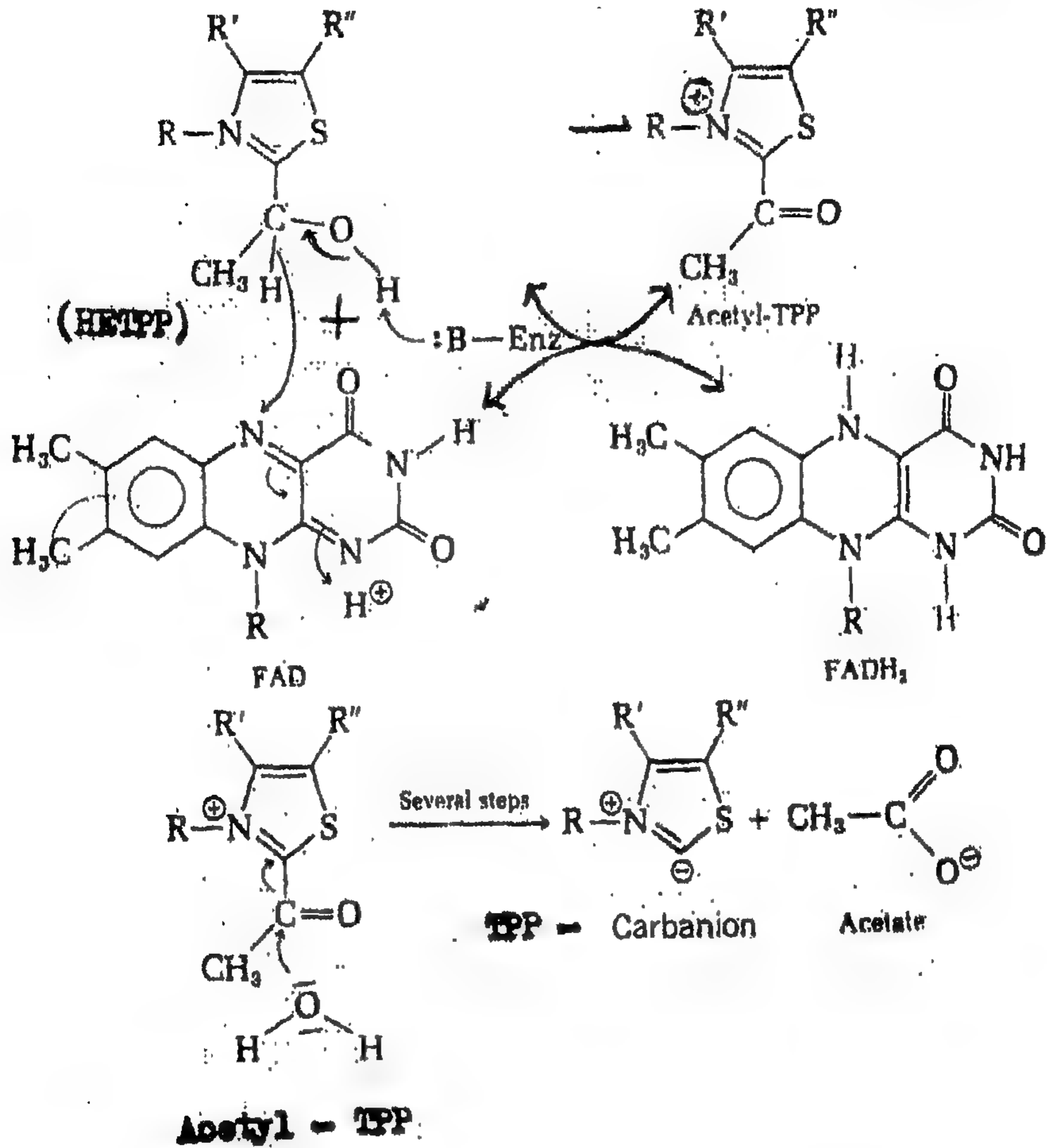
(9 -1)

إزالة الكربوكسيل التأكسدية:

انزيم البكتيريا E.Coli المسمى (أوكسداز البيروفات) Phruvate oxidase يزيل الكربوكسيل من البيروفات لتكوين الاستات وثاني أوكسيد الكربون عوضاً عن الاستالدهيد وثاني أوكسيد الكربون. يحتاج الأنزيم في فعاليته إلى المركب FAD أيضاً، وينتج عن الخطوة الأولى للتفاعل المركب HETPP كما هي الحالة مع أنزيم الخميرة pyruvate decarboxylase.

وفي الخطوة التالية تنقل الهيدروجين الميثامين methine من المركب FADH₂, Acetylthiamine prophosphate ويتكون بذلك HETPP إلى FAD

وينتج عن التحلل المائي للمركب Acetyl-Tpp استات و كاربانيون المركب TPP مستعدة لتحفيز التفاعل مرة أخرى (شكل 1-2).

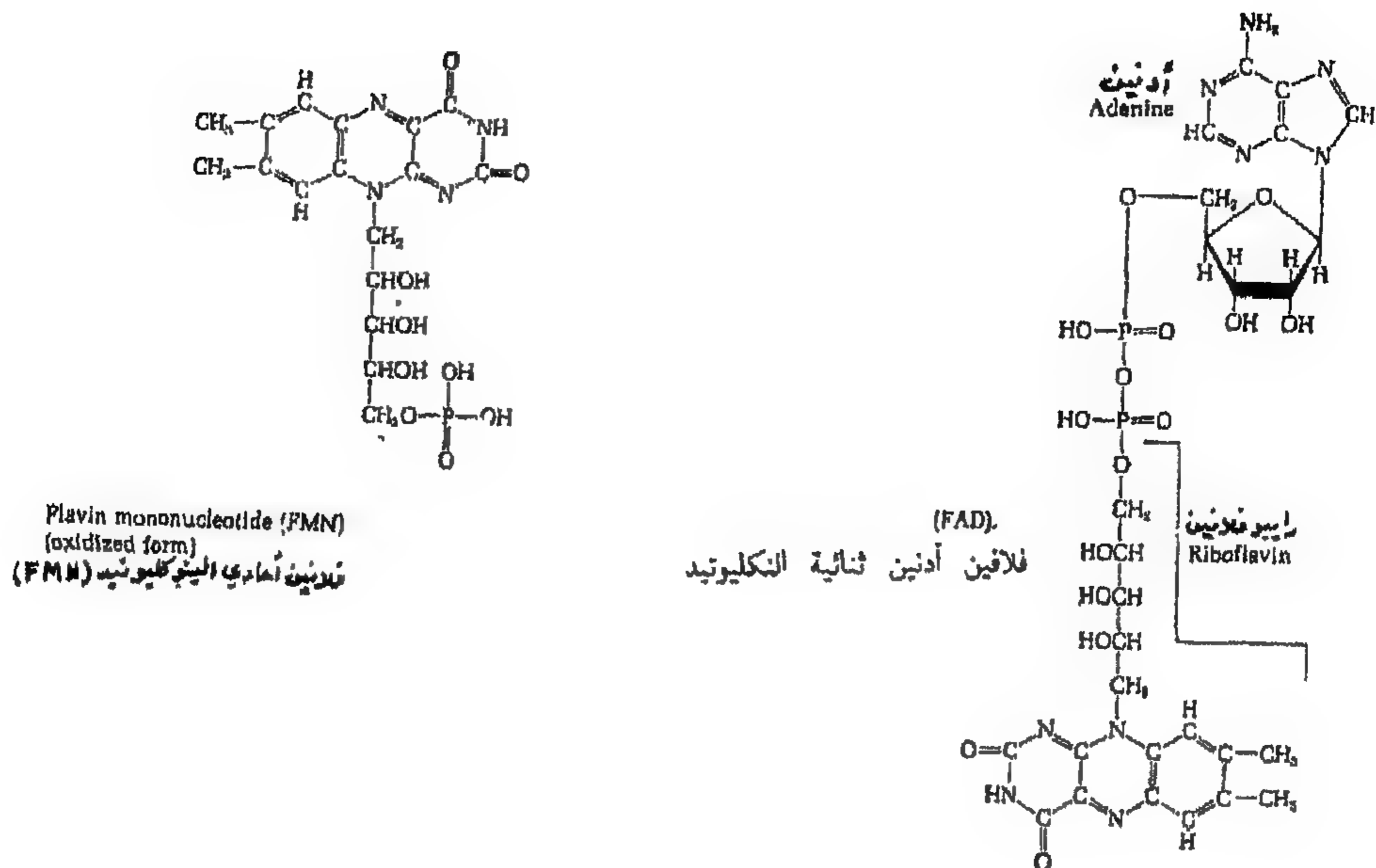


شكل 1-2 نقل هيدورجين مجموعة الميثاين من المركب

FAD إلى Hydroxyethylamine (HETPP)

2-4-1 الريبوفلافين

ويسمى أيضاً فيتامين B₂ أو فيتامين G أولاً كتوفلافين



1-2-4-1 وجوده:

يوجد تركيز عال للريبوفلافين في عيون الأسماك وفي بعض أنواع السرطان ويعد الحليب وبياض البيض والكبد والقلب والكلى والخضراوات الورقية أفضل المصادر له. ويوجد الريبوفلافين أيضاً بتركيز جيدة في عضلات البقر والعجل والدواجن وفي المشمش والطماطة أما عضلات الأسماك والحبوب والبقول فهي مصادر فقيرة نسبياً بالفيتامين.

يوجد الريبوفلافين بصيغة حرة يمكن ديلزتها Dialyzable في قرينة العين والشرش whey (يفضل عند تصنيع الجبن) فقط، أما في بقية الأعضاء والأنسجة والخلايا الأخرى. فيوجد بصيغة فلافين أحادي النيوكلوتيد (FMM) أو فلافين أدنين ثنائي النيوكلوتيد (FAD). يوجد الريبوفلافين في الحليب البشري بصيغة FAD لقد وجد بأن الفلافين أحادي النيوكلوتيد يستطيع تكوين معقدات ضعيفة الارتباط مع مواد غير قابلة للديلة وكمثال الالبومين.

ويمكن فصل الريبوفلافين عن البروتين بترسيب البروتين بكبريتات الأمونيوم.

1-4-2-2 استخلاصه :-

لتحرير الريبوفلافين من البروتين المرتبطة به بصورة طبيعية ، يجب معاملة النسيج المهروس بمذيبات مناسبة في درجة حرارة الغرفة أو في درجة الغليان للمذيب. ولقد استخدم لهذا الغرض الكحول الإيثيلي والاستون والمحاليل المائية الحمضية وعلى سبيل المثال يمكن الحصول على الريبوفلافين من النباتات الطازجة أو المجففة- وبحصيلة جيدة- بفلها لمدة 45 دقيقة مع 70% كحول مثيلي ولعزل الريبوفلافين من المستخلص، يجب إزالة الشحوم أولاً باستخلاصها بالأثير (لا يذوب الفيتامين فيه). كما يمكن التخلص من الكلايكوجين بالترسيب الجزئي بالكحول أو الاستون. يمكن استخلاص الفيتامين بالبيوتانول Bantanol ثم يرسب بإضافة الأثير النفطي Petroleum ether يترسب الريبوفلافين باستات الرصاص أو نترات الفضة في محلول متعادل أو بحامض فسفوتنكستك phosphotungstic في 1 عياري حامض الكبريتيك ويمكن استخلاص حامض الفسفوتنكستك بالكحول الأميلي alcohol Amyl. ان نترات الفضة أو كبريتات الزئبق في المحلول الحامضي لا تؤثر في ذوبان الفيتامين ولكنها ترسب بعض المواد الملوثة.

يمكن امتزاز الريبوفلافين من المحلول الحامضي باستخدام Florisil أو earth Fullers أو Floridin XXF ومن أفضل المحاليل الشاطفة Elvantes: محلول البريديين المخفف بالإيثانول أو الميثانول المائي كما يمكن استخدام الأمونيا أو أو. عياري NaOH في 60% إيثانول أو 60% إيثانول في درجة الغليان أو 80% استون. ولعزل الريبوفلافين النقي، يجب استخدام طرق الامتزاز والترسيب سوية.

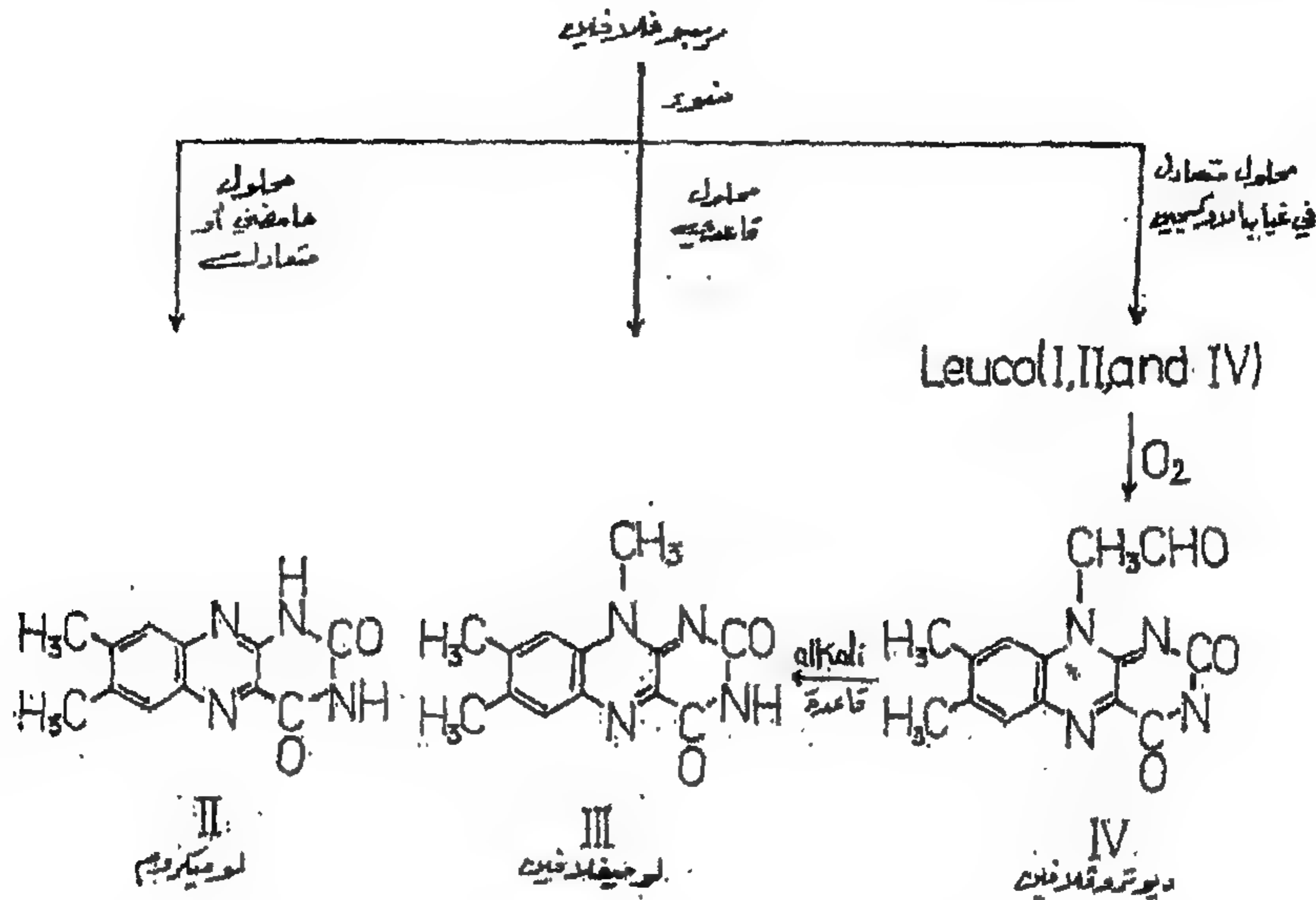
1-4-2-3 الخواص الكيميائية والفيزيائية

تمتلك بلورات الريبوفلافين المتبلورة من 2 عياري حامض الخليك أو الكحول أو الماء أو البريدين، شكلاً ابرياً ولونا اصفر - برتقالياً. درجة حرارة تفكك الفيتامين 278 - 282°م وهو عديم الرائحة ومر المذاق. والريبوفلافين قليل الذوبان في الماء (10-13 ملغم/100 ملتر في 25 - 27.5°م) وذوبانه في الكحول محدود جداً (4.5 ملغم/100 ملتر) وتقل قابلية الذوبان في الكحول الأميلي والسايكوهكسانول والفينول. تذوب القاعدة الريبوفلافين إلا أن هذه المحاليل غير ثابتة. لا يذوب الفيتامين في الأثير أو الاستون أو الكلوروفورم أو البنزين.

للمحاليل المتعادلة للريبوفلافين لونا أصفر مخضر. ويظهر طيف الامتصاص قما عند 475 و 446 و 359-375 و 368 و 223 نانوميتر. ولقد استخدم الامتصاص في المنطقة المرئية من الطيف لتعيين الريبوفلافين تظهر المحاليل المتعادلة للريبوفلافين كذلك تالفا اخضر مصفراً بقيمة عند 565 نانوميتر يمكن استخدامها لتعيين الفيتامين، ويختفي التآلق عند إضافة الحامض أو القاعدة. ويظهر أقصى تآلق في مدى الرقم الهيدروجيني 3-58 أن التآلق الضعيف نسبياً FAD قد ينتج عن اخمداد داخلي نتيجة لتأصر جزئي الالوكسازين Alloxazine والأدينين للجزئية ويزداد الاخمداد بزيادة التركيز نتيجة لتأصر بين الجزئيات.

المحاليل المائية المتعادلة للريبوفلافين ثابتة نسبياً تجاه الحرارة إذا حجب عنها الضوء ويمكن حتى تعقيمها في الموصدة Autoclave لفترة قصيرة. يتفكك الريبوفلافين في المحاليل الدارئة ذات الرقم الهيدروجيني 6.0.5.0 المحفوظة في درجة حرارة الغرفة (27°م) بمعدل 2 و 3% في الشهر على التوالي. لا يتعرض الفيتامين لتلف ملحوظ خلال طهي الطعام ولكن إذا تعرضت قناني الحليب لضوء الشمس، فإن أكثر من نصف الريبوفلافين يفقد في ساعتين. وتزداد نسبة التلف بزيادة درجة الحرارة والرقم الهيدروجيني. يؤدي تسحيح المحلول القاعدي للريبوفلافين - وخصوصاً في الطول الموجي 420-560 نانوميتر - إلى تحول

الريبوفلافين إلى Lumiflavin الذي يمتلك مجموعة مثيل عوضاً عن ثمالة ريبيتول في الموقع 9 (شكل 1-3). أما تشيع محلول الريبيتول الحامضي، فينتج عنه Lumichrome الذي يفتقر إلى ثمالة الريبوتول (شكل 1-3).



شكل 1-3 مخطط يوضح تأثير تسحيح الريبوفلافين في محاليله المتعادلة والحامضية والقاعدية

لا يتأثر الريبوفلافين بالحوامض أو الهواء أو المواد المؤكسدة (فيما عدا $KMnO_4$ و potassium persulfate مثل البروم وحامض النتروز). وتعتمد إحدى الطرق الناجحة جداً في تنقية الفيتامين على هذه الحقيقة، إذ تؤكسد الشوائب في محيط حامضي في درجة حرارة أقل من 100°C باستخدام Cl_2 أو H_2O_2 أو HNO_3 أو $HClO_3$

4-2-4-1 تعيين الريبوفلافين

يمكن تعيين الريبوفلافين كيميائياً أو باستخدام الأحياء المجهرية وإذا كان تركيز الريبوفلافين عاليا نسبياً، فإن من الممكن استعمال طريقة كيميائية وكمثال طريقة اللوميفلافين Lumiflavin والتي تعتمد على حقيقة

تحويل الريبوفلافين إلى لوميفلافين عند تعريضه للضوء. ويمكن قياس شدة التألق في المنطقة فوق البنفسجية. كما أن التعيين البولاريفي للريبوفلافين مناسب لعمليات لخصوصيته وسهولته:

عند تعيين المحتوى الكلي لفيتامين B₂ في الغذاء، يجب أولاً تحرير الفيتامين الموجود بشكل استرمع حامض الفسفوريك أو بشكل ثنائي النيوكليوتيد أو المرتبط بالبروتين. ويتم ذلك باستخدام انزيم يشطر ثمالة (Residue) الفسفات وكمثال (Clarase)

1-4-2-5 إنتاج الريبوفلافين

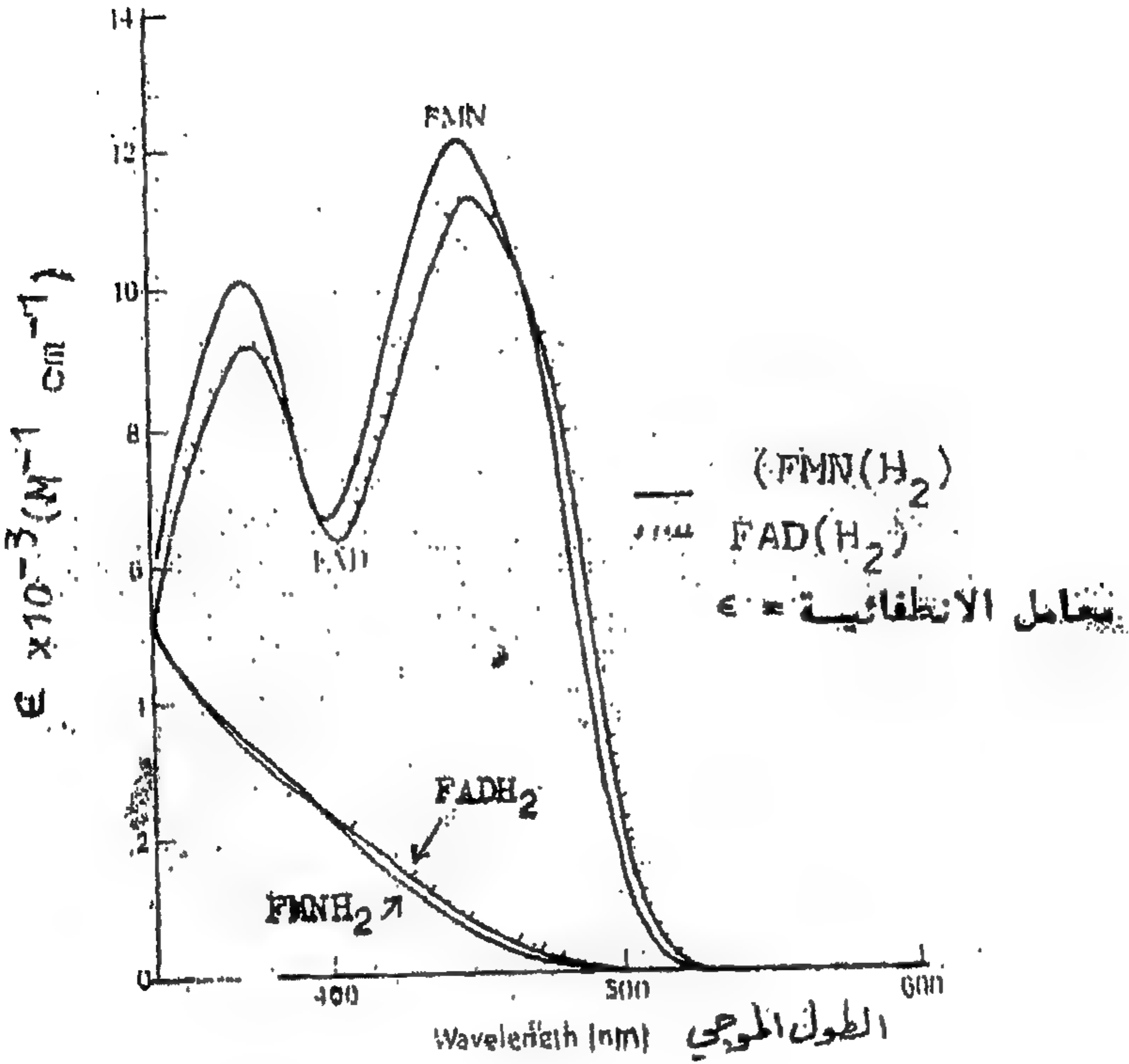
يمكن تحضير الريبوفلافين تجارياً بالتركيب الكيميائي وتستخدم مصادر طبيعية مختلفة لإنتاجه باستخدام الأحياء المجهرية المخمرة Fermenting microorganisms. وعلى سبيل المثال معاملة الشرش whey ونواتج الحليب الأخرى بالخمائر المخمرة للاكتوز وخاصة Saccharomyces fragilis أو عدة أنواع من Lactobacillus أو الاعفان وكمثال Aspergillus niger و Aspergillus flavus و penicillium Chrysogenum يحضر الريبوفلافين تجارياً باستخدام Eremothecium ashbyii ويتم التخمر الهوائي في المستتبت Culture بوجود تهوية وتحريك مستمرين.

ويمكن استخدام المستتبت الصلب (وكمثال Germ rice, Germ wheat ويقال بأن إنتاج الريبوفلافين قد يصل إلى 20 ملغم/غم).

1-4-2-6 الوظيفة الكيميائية الحياتية

الصيغة الفعالة لفيتامين B₂ هي FMN أو FAD، وتسمى الأنزيمات التي تتطلب وجود FMN أو FAD باسم Flavoenzymes. تعني كلمة Flavin باللاتينية (اصفر) والسبب لهذه التسمية يعود للون الفلافينات الأصفر البراق. وعند اختزال حلقة الايزوالوكسازين Isoalloxazine للتميم الأنزيمي FMN أو

FAD يصبح التميم الأنزيمي المختزل عديم اللون لفقدان النظام الالكتروني TT الممتد. يوضح الشكل (4-1) طيف الامتصاص للتميمات FMN أو FAD ويستخدم التغير في طيف الامتصاص كمؤشر لفعالية الفلافوانزيمات.



شكل 4-1 طيف الامتصاص للتميمات الأنزيمية FMN و FAD

بصيفتها المختزلة والمؤكسدة

تحفز الفلافوانزيمات Flavoenzymes تفاعلات أكسدة واختزال مختلفة.

يوضح الجدول 5-1 الأصناف الرئيسية للفلافوانزيمات وأنماط Types

الركائز Substrates المؤكسدة أو المختزلة.

جدول 1-5 الأصناف الرئيسية للفلافوانزيمات Flavonezymes

الأنزيمات	الفعالية التحفيزية
Dehydrogenases (مزيلات الهيدروجين)	تستخدم متقبل للإلكترون واحد غير الأوكسجين الجزئي، وغالبا ما ترتبط وظيفيا بالسلسلة التنفسية المرتبطة بغشاء خلوي.
الاوكسدازات Oxidases	تستخدم الأوكسجين الجزئي O_2 بمثابة متقبل للإلكترونات ويختزل إلى H_2O
اوكسيدازات- مزيلات الكربوكسيل Oxidases- decarboxylases	إزالة CO_2 وأكسدة بأربعة إلكترونات. يتحول $H_2O \leftarrow O_2$ $S + O_2 \rightarrow S - OH + H_2O$
انزيمات الهدر كسلة Hydroxylases	
الفلافو انزيمات الفلزية Metaloflavoenzymes	تتطلب عنصرا انتقاليا مرتبطا بها لتظهر فعاليتها

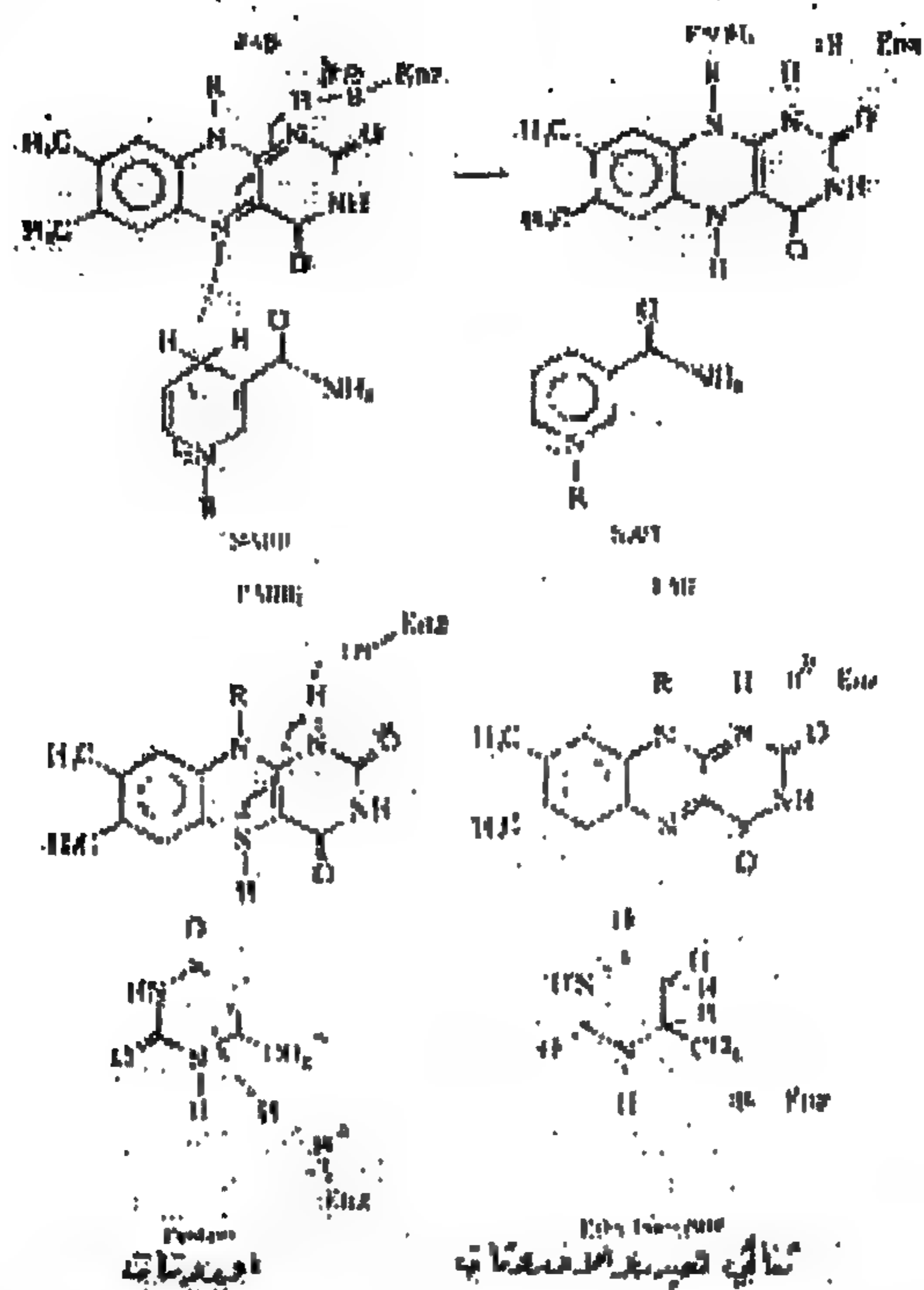
آليات عمل بعض أنزيمات الفلافوبروتين المزيلة للهيدروجين

Mechanisms of action of some flavoenzyme dehydrogenases.

تظهر الفلافوانزيمات مدى واسعا للآليات التي لم يفهم العديد منها لحد الآن ولا يمكن وصفها بصورة إجمالية، فبعض الفلافوانزيمات تحفز نقل أيون الهيدريد Hydride والبعض الآخر يحفز نقل الكترون واحد بصورة متتابعة وتتكون الجذور الحرة Free radicals بوصفها مركبات وسطية في عمليات النقل هذا بينما يحتاج الصنف الآخر من الأنزيمات إلى أيونات فلزية لفعاليتها. إن هذه الأنزيمات الحاوية على الفلزات، تحفز تفاعلات نقل الكترون واحد أو الكترون وسوف نتناول فيما يلي بعض آليات عمل الفلافوانزيمات.

أ. النقل المباشر للهيدريد Direct hydride transfer

يساهم الانزيم Dihydroorotate dehydrogenase في تخليق اليوردين أحادي الفسفات Ump في مسلك دي نوفو De novo لتخليق نيوكليوتيدات البريميدين وهو مثال للأنزيمات التي تحفز نقل أيون الهيدريد. يحتاج الأنزيم أيضاً إلى NAD^+ في عمله ويحصل التفاعل المخفز بنقل أيون الهيدريد من $NADH$ إلى FAD ويتبع ذلك نقل أيون الهيدريد من $FADH_2$ إلى الاوروتات Orotate. يتكون الأنزيم Dihydroorotate dehydrogenase من أربع دون وحدات Subunits ويحتوي على FMN و FAD وذرتي حديد تتذبذب حالات الأكسدة لهما خلال التفاعل بين (II) و (III) و $Fe(III)$. ويوضح الشكل 1-5 الآلية المقترحة للتفاعل.

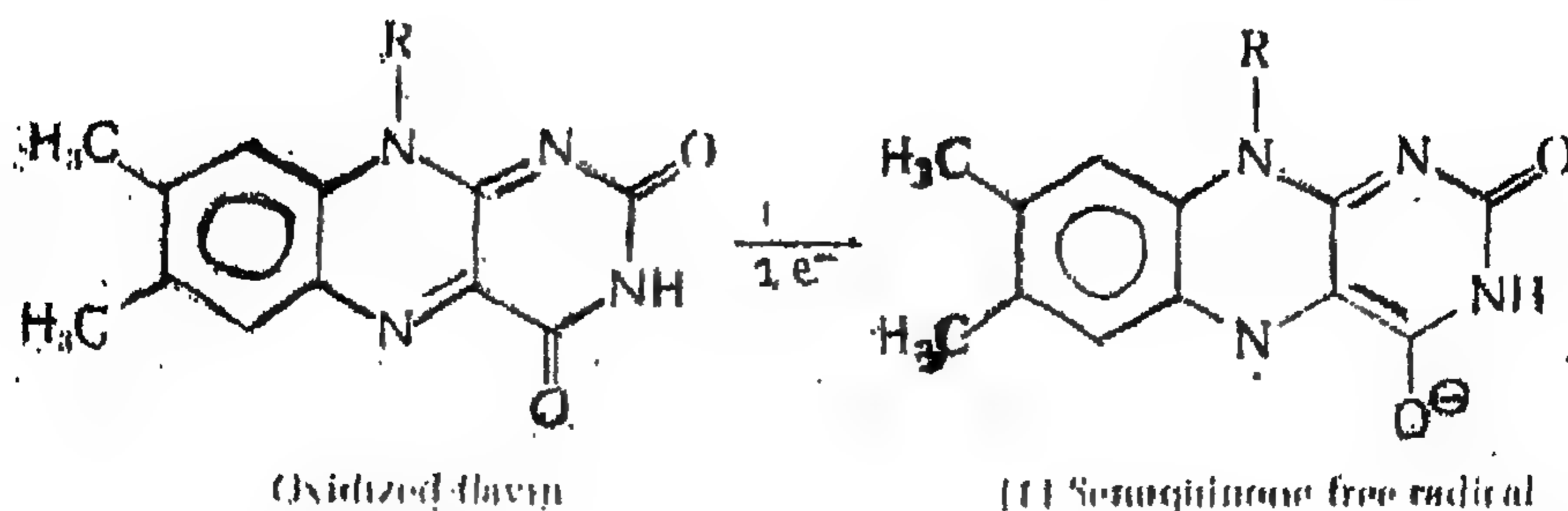


شكل 1-5 الآلية المقترحة لعمل الأنزيم Dihydroorotate dehydrogenase

يشتمل التفاعل على النقل المتتابع للهدريد. هناك مراحل وسطية غير مفهومة تشتمل على أكسدة واختزال ذرة حديد في الفلافوأنزيم (المصدر 10).

ب. نقل الإلكترون واحد: انصاف الكوينون Semiquinones

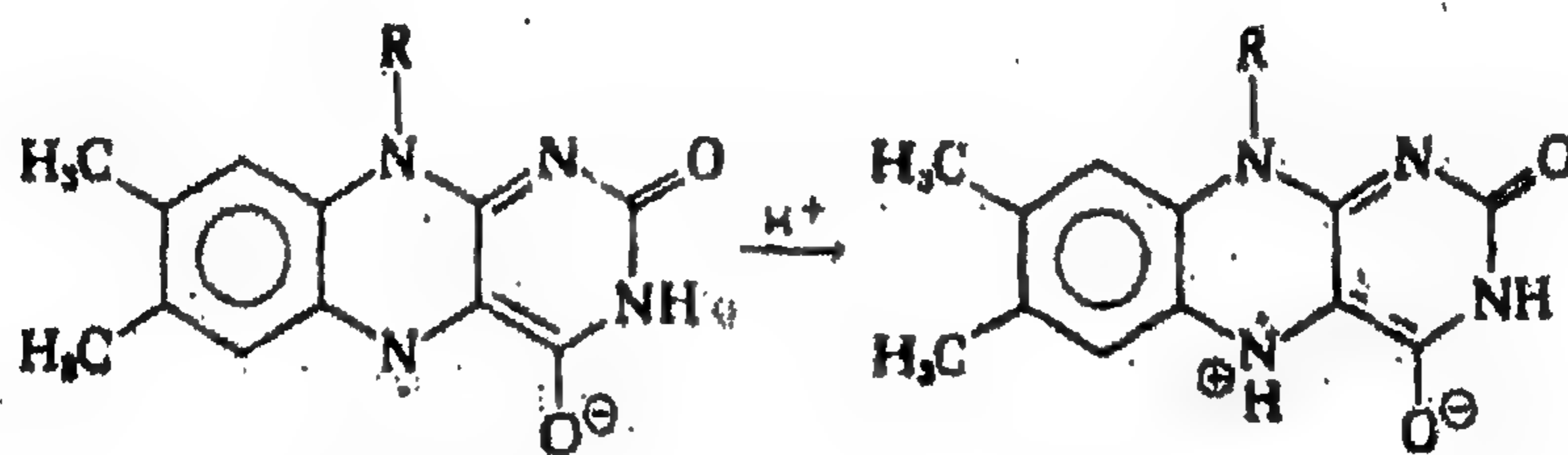
تختزل الفلافينات على مراحل تتضمن كل منها نقل إلكترون واحد. إن هذه التفاعلات أكثر تعقيداً من تفاعلات نقل الهدريد. ينتج عن نقل إلكترون واحد من الركيزة Substrate إلى الفلافين جذر حر لنصف الكوينون Semiquinone ويظهر قمة امتصاص عند 480.



فلافين مؤكسد

المركب (١)
الجذر الحر لنصف الكوينون

تمتلك حلقة الإيزوا لوكسازين محصلة شحنة -1 عندما تكون بشكل جذر Semiquinone (المركب) ويظهر هذا الانيون قمة امتصاص عند 480 نانوميتر ويكون لونه احمرًا ساطعاً. تؤدي بروتنة Protonation الجذر الأنوني إلى معادلة شحنته السالبة ويصبح لونه أزرقاً (يظهر قمة امتصاص عند 570 نانوميتر) (المركب 2):



(1) Radical anion

الجذر الانيلي

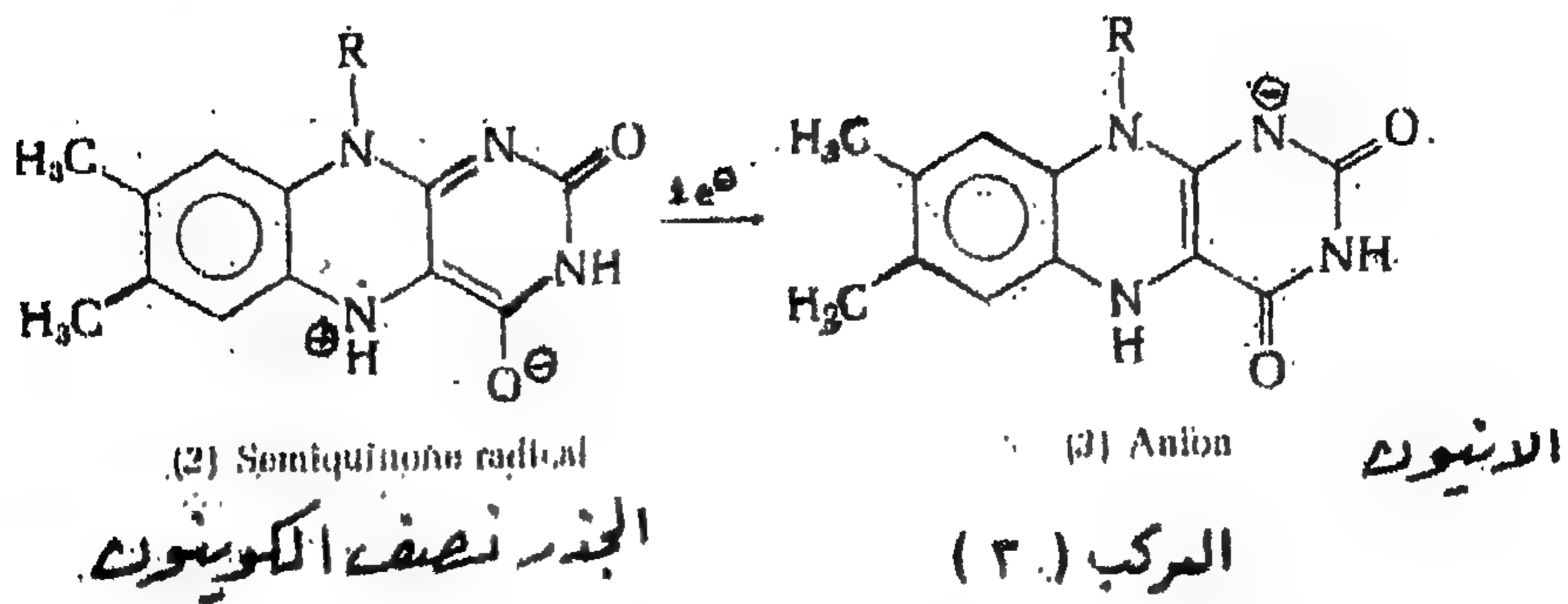
(2) Neutral radical

(λ_{max} 570 nm, blue)

المركب (٢)

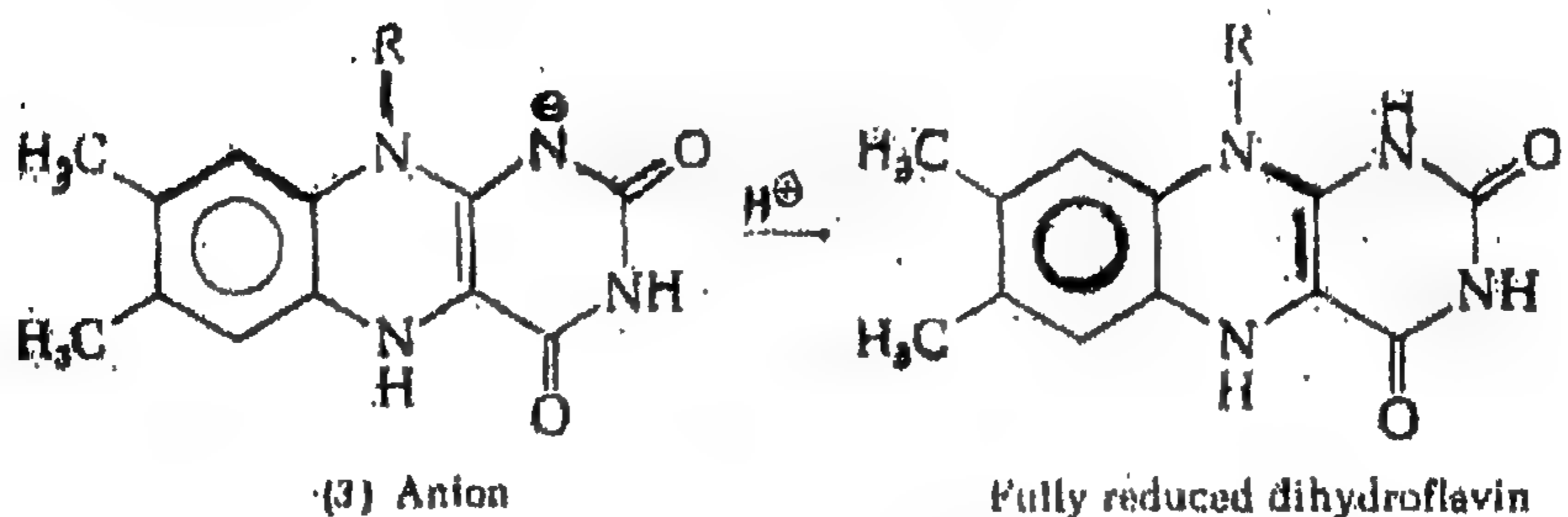
الجذر المحايد

إن نقل الكترون آخر إلى المركب (2) يؤدي إلى تكوين الانيون (3):



(11 -1)

يلتقط الأنيون (3) بروتون لتكوين ثنائي هيدروفلافين المختزل كلياً:



الأنيون
(13 -1)

ثنائي هيدروالفلافين المختزل كلياً
(12 -1)

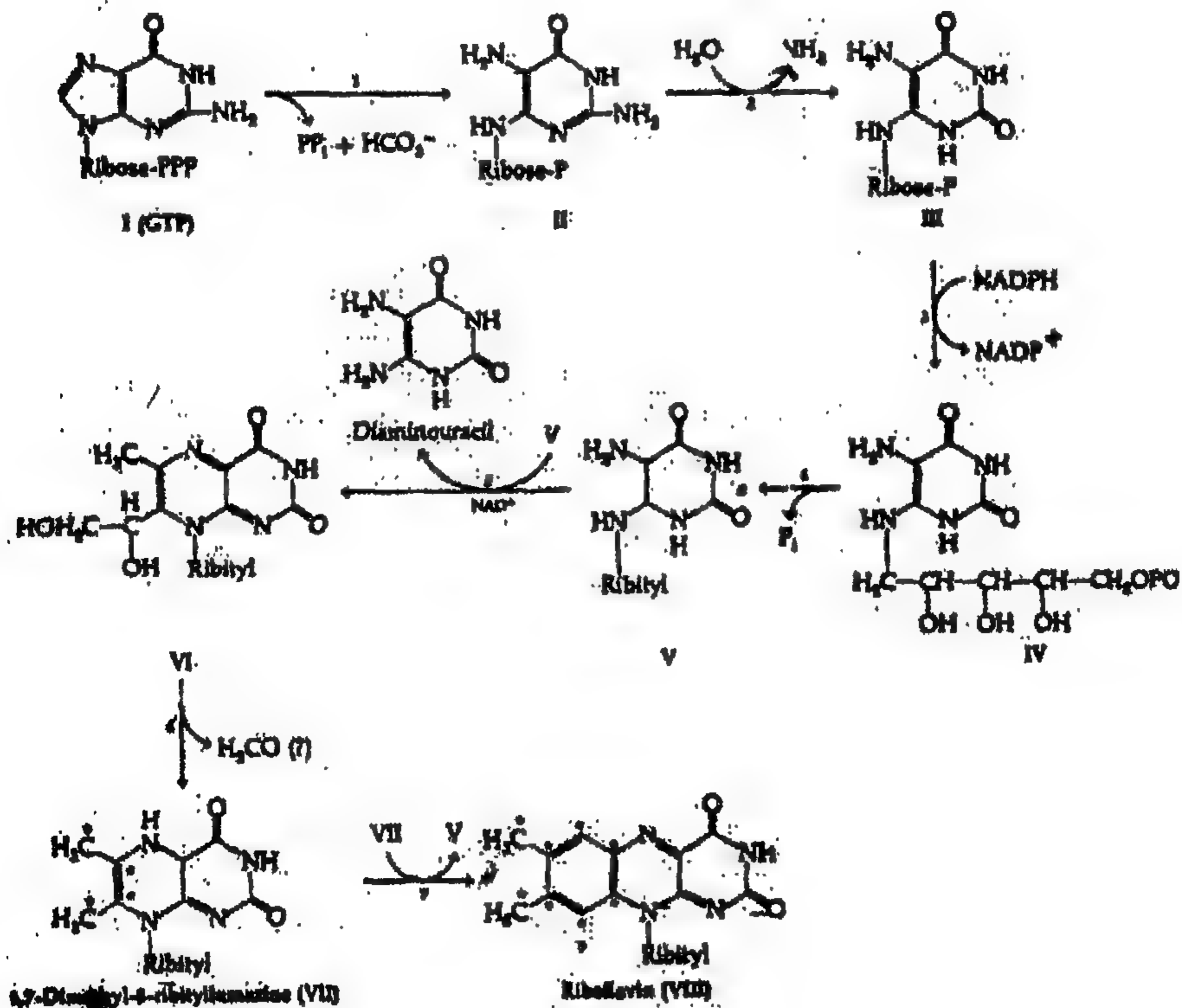
تكون جذور انصاف الكوينونات ثابتة لأن الكترولونات غير المزدوجة Unpaired تستطيع أن تغادر موضعها وتدخل في النظام II لحلقة الايزوالوكسازين.

إن ثبات جذور نصف الكوينون يمكنها من العمل بمثابة مركبات وسطية بين تفاعلات نقل الإلكترون الواحد والالكترولونين كما يحصل في عملية التنفس.

1-4-2-7 التخليق الحيوي

يتم تخليق الريبوفلافين في النباتات الخضراء وفي معظم البكتيريا والعفن ولا يمكن ذلك في الحيوانات وتستخدم لغرض التخليق، جميع ذرات الكربون والنتروجين للكوانين عدا عن C-8 لحلقة البيورين.

يوضح الشكل (1-6) مسلك تخليق الريبوفلافين المقترح بناء على الدراسات الكيميائية الحياتية والوراثية على الخميرة والإعقان الأخرى والبكتريا *E. coli* يمثل الكوانوسين ثلاثي الفوسفات GTP (انظر I) ميثضة وسطية اجبارية كما في حالة تخليق حامض الفوليك. إن مبادلة المجموعة الأمينية في المشتق II.



شكل 1-6 المخطط المقترح لتخليق الريبوفلافين في البكتيريا والخميرة والعفن.

يفتح المركب الكوانوسين ثلاثي الفسفات GTP بانزيم Cyclohyrolase مع فقدان ppi وكربون رقم 8 (تفاعل 1) بتبع إزالة مجموعة الامين (تفاعل 2) اختزال فوسفات الريبوسيل إلى فوسفات الريبيتيل (تفاعل 3) في البكتريا E.coli وأما في الخميرة فيتقدم التفاعل 3 على التفاعل 4. يحفز انزيم الفسفاتاز تحول VI إلى V. يتطلب تكوين المركب VI جزيئين من V.

إن فقدان وحدة كربون (ربما يشكل فورمالدهيد) يعطي VII يحول الأنزيم Riboflavinsynthetase جزيئين من VII إلى ريبوفلافين وجزيئة V يعاد استخدامها في تفاعل (5).

6-Oxy-2.4.5-Triamino Pyrimidine بمجموعة كيتون يعطي المركب III 5-Amino-2.6-dioxy-4(1-ribosylamino-D) pyrimidine

يتراكم هذان المركبان في مزارع الخمائر المطفرة المفتقرة إلى الريبوفلافين deficient mutants-flavin Ribo-. إن تحول المركب III يشتمل على اختزال المشتق Ribosyl phosphate D- تزال بفعل أنزيم فوسفاتاز لتكوين المركب (V). تمثل سلسلة التفاعلات المذكورة ما يحصل في البكتريا E.coli إما في الخميرة Ashbya فيعتقد بأن التسلسل هو:



تتطلب الخطوة التالية جزيئين من المركب (v)



لتكوين (6-Methyl-7-dihydroxyethyl-γ-ribityllum & Zine و VI Diaminouracil ناتجاً عرضياً. ولإضافة سلسلة الريبيتال الجانبية من إحدى جزيئتي المركب (V) إلى الأخرى، يتطلب التفاعل كمية ضئيلة من NAD⁺ ويعتقد بأنه يختزل أولاً إلى NADH ثم يعاد أكسده إلى NAD⁺.

يشتمل تحول المركب (VI) إلى II (-Dimethy &-ribityllum & Zine) III6.7 فقدان وحدة كربون ربما بصيغة فورمالدهيد.

يكتمل تخليق الريبوفلافين بالأنزيم Riboflavin synthase (التفاعل 7) الذي يمتلك مواقع ارتباط لجزيئتي Lumazine (Vii) تتكسر حلقة Diazine لجزيئة واحدة ويضاف جزء رباعي الكربون لجزيئة ثانية Lumazine كما موضح بتوزيع C^{14} المؤشر اذاءه (شكل 1-6) وهكذا تتكون جزيئة Riboflavu (VII) وجزيئة (V) يحافظ عليها ويعاد استخدامها لتكوين Lumazine (VII).

يمكن تخليق أحادي نيوكليوتيد الفلافين FMN من الريبوفلافين في الأنسجة الحيوانية بتفاعل مخفز بالأنزيم Riboflavin kinase



ويمكن تكوين fAD من FMN بتفاعل عكوس يحفزه الأنزيم FMN adeny- transferase



FMN

FAD

لا تستطيع بعض البكتريا تخليق الريبوفلافين ويمثل عامل جوهري للعديد منها وخصوصا lactobacilli إن سرعة إنتاج الحامض بواسطة هذه الأحياء المجهرية نسبة إلى كمية الفيتامين في الوسط يمثل أساس الطرق الكمية لتقدير الريبوفلافين.

تمثل أبسط الطرق لتعيين الريبوفلافين قياس تألق محاليله

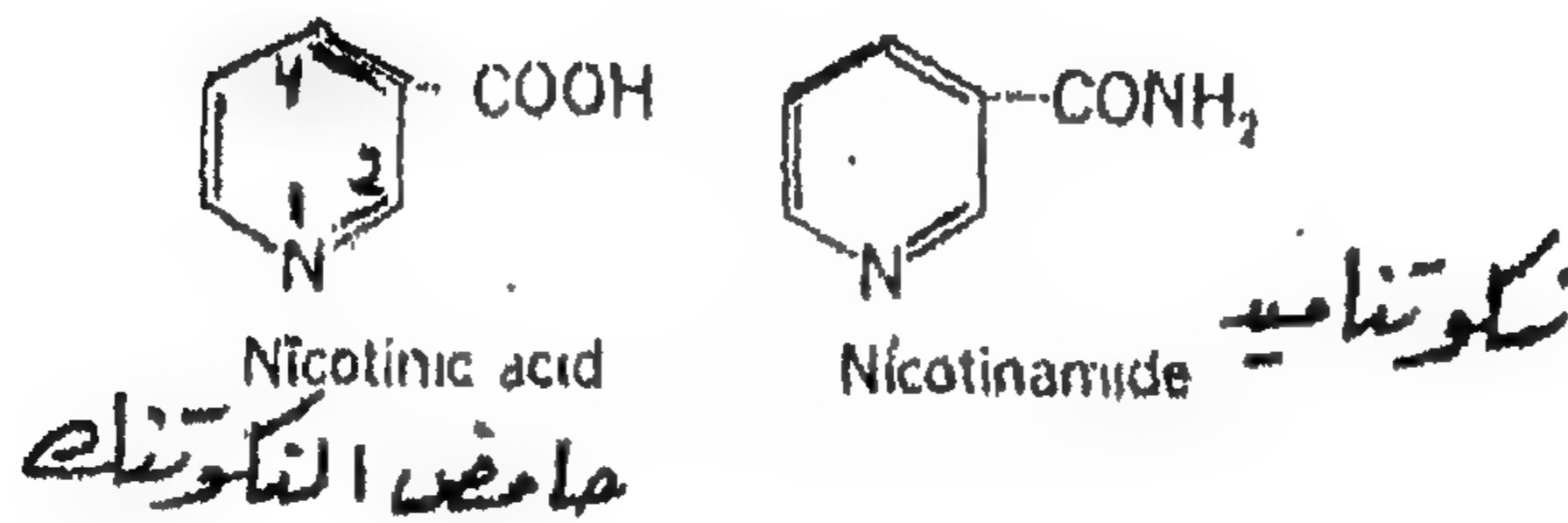
Fluorescence measurement

1-4-3 حامض النكوتيك أو نياسين

تعطى التسمية نياسين لحامض النكوتيك واميده Nicotinamide ولكلا المركبين فعلا حيويًا واحداً ذلك لإمكانية تحول أحدهما إلى الآخر في الكائن الحي.

يمتلك حامض النيكوتيك درجة انصهار 234-237°م (تصعيد)، ويزوب في الماء والكحول ونظراً لكونه امفوتيري، فهو يذوب بصورة أفضل في الحوامض والقواعد مما في الماء وتكون المحاليل الحامضية والقاعدية والمتعادلة لحامض النيكوتيك شديدة الثبات.

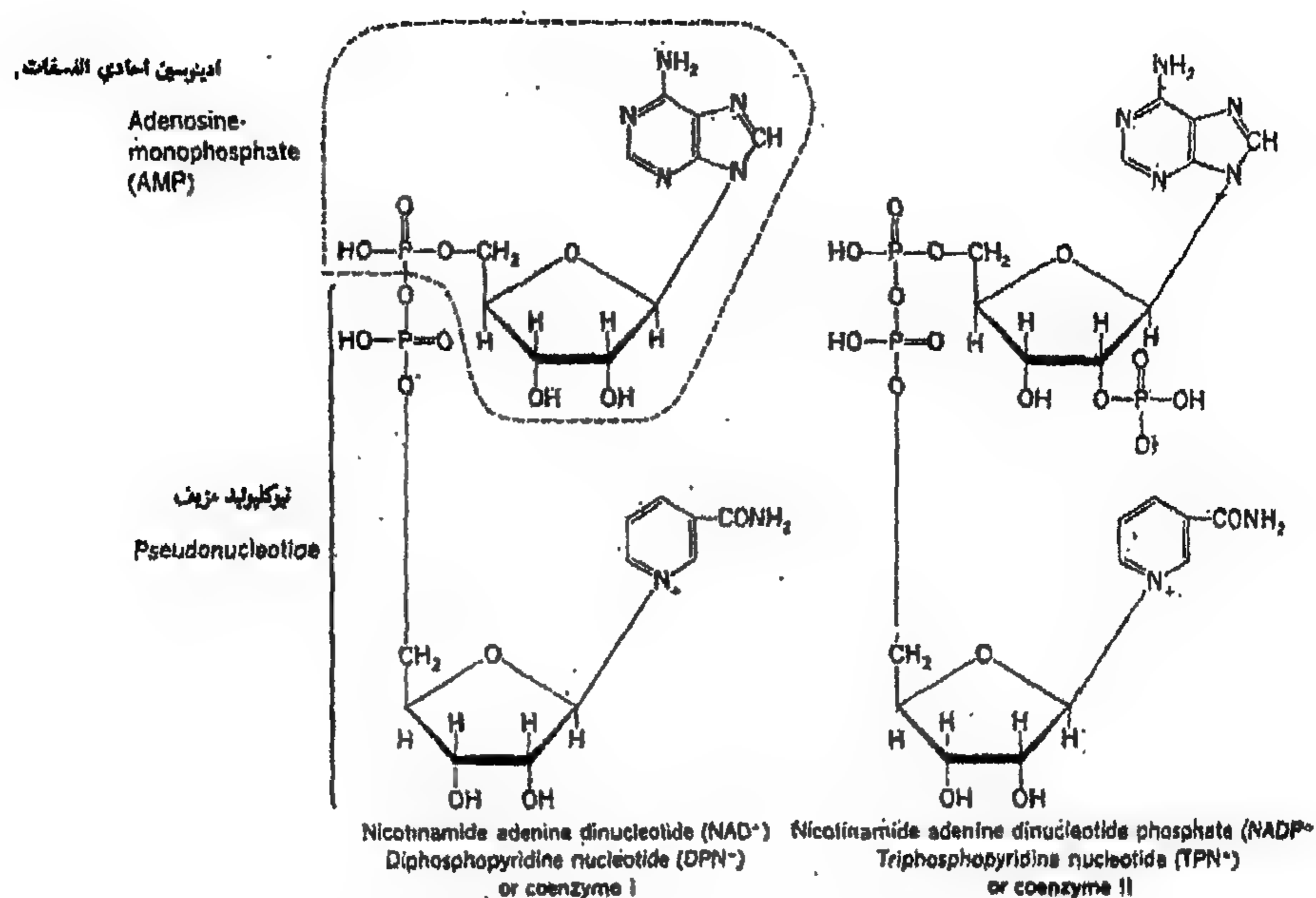
ينصهر اميد حامض النيكوتيك عند 128-131°م ويكون سريع الذوبان في الماء وفي 95% كحول وفي الكلسيروول. يمتلك حامض النيكوتيك واميده طيف امتصاص في المنطقة فوق البنفسجية بقمة عند 260 نانوميتر.



1-3-4-1 وجوده ووظيفته الحيوية

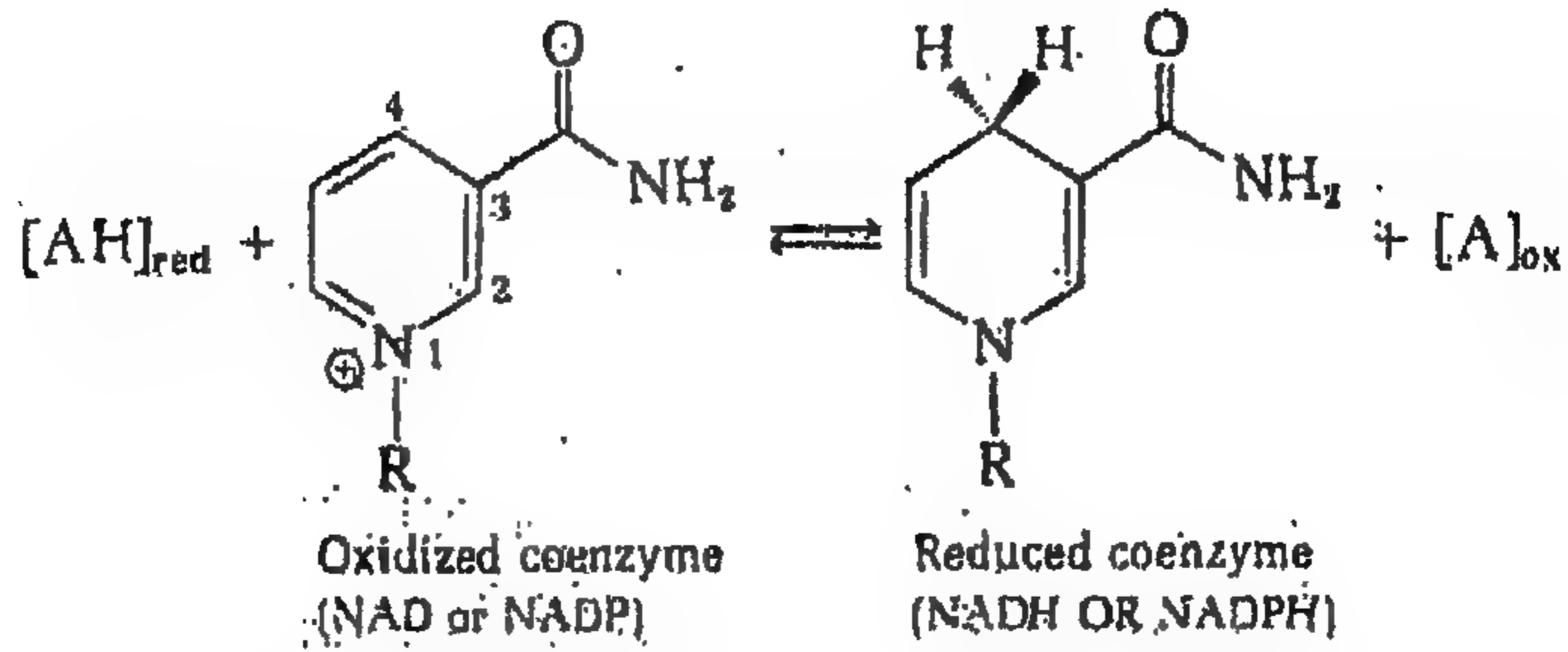
ينتشر حامض النيكوتيك في الأنسجة النباتية والحيوانية وتعد منتجات اللحوم مصادر غنية به يكون حامض النيكوتيك فعالاً في جسم الإنسان بصيغة تميمين Coenzymes: نيكوتيناميد ادنين ثنائي النيوكليوتيد NAD^+ ونيكوتيناميد ادنين ثنائي النيوكليوتيد المفسفر $NADP^+$.

ولقد كان NAD^+ يسمى سابقاً Coenzyme أو (DPN+) phopyridine nudeotide أو التسمية القديمة للمركب $NADP^+$ فهي Coenzye أو Triphosphophopyridine nuclotide، وكما يتضح من الشكل (1-7) فإن ثنائي النيوكليوتيدات هذه تتكون كيميائياً من أحادي النيوكليوتيد ادينوسين أحادي الفسفات AMF ونيوكليوتيد مزيف لأن النيكوتين اميد ليس مشتقاً للبيورين أو البريميدين.



شكل (1-7) تركيب التميمين الأنزيميين NAD^+ و $NADP^+$

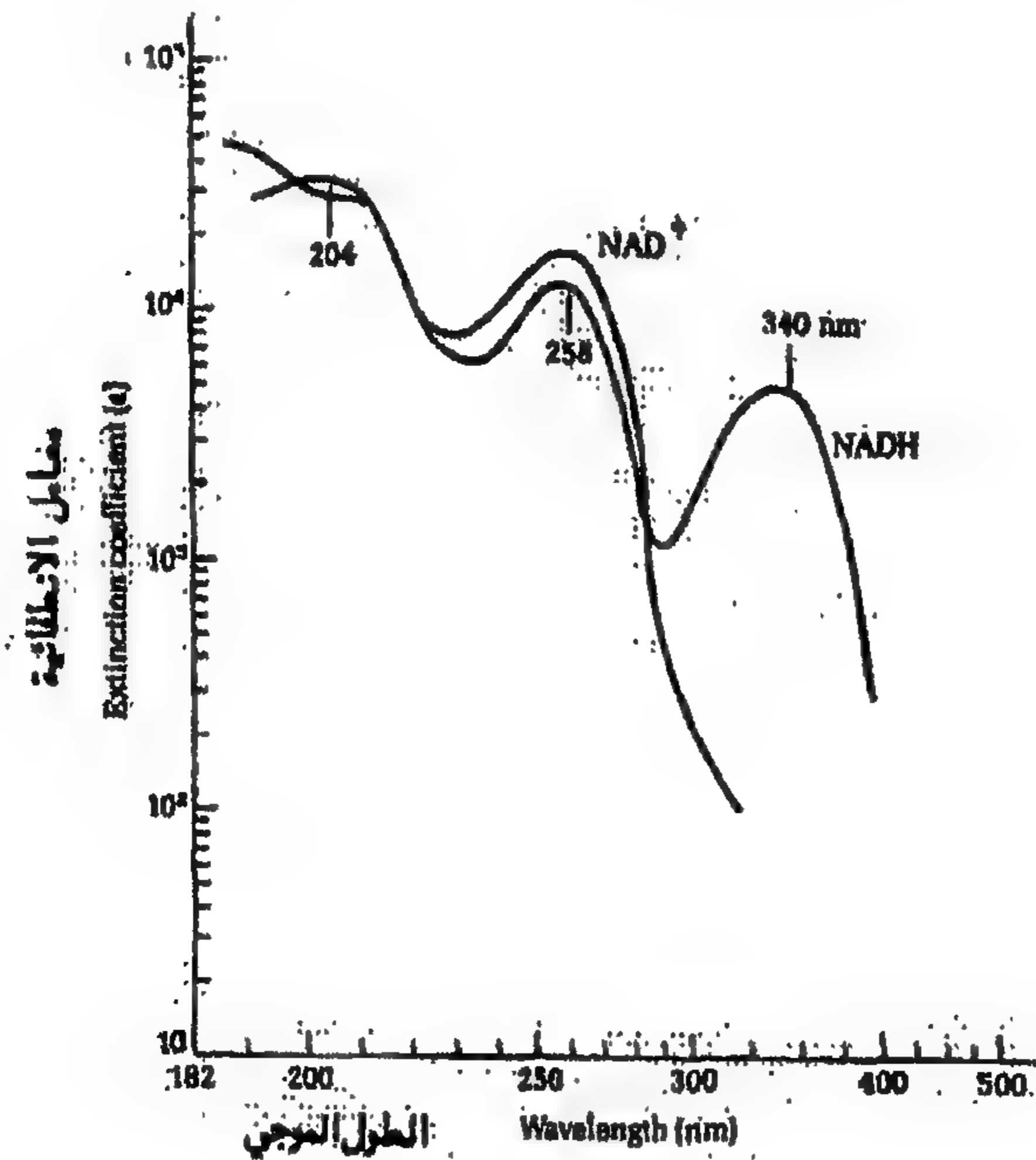
يساهم التميمين NAD^+ و $NADP^+$ في مجموعة واسعة من تفاعلات الأكسدة والاختزال. إن الجزء الفعال لك NAD^+ و $NADP^+$ هو الموقع 4 لحلقة البيريدين التي تتقبل أو تهب انيون هيدريد. إن ذرة النتروجين موجبة الشحنة لحلقة البيريدين تعمل بمثابة حوض الإلكترونات وبذلك تساعد في نقل الهيدروجين مع زوجه الإلكترونات (أيون الهيدريد) من الركيزة AH إلى التميمين الأنزيمي (NAD^+ أو $NADP^+$).



التميم الأنزيمي المؤكسد التميم الأنزيمي المختزل

(14-1)

يمكن تتبع تفاعلات أكسدة NADH (أو اختزال) (NAD^+) بسهولة (شكل 8-1) باستخدام المطياف ذلك لأن طيف الامتصاص في المنطقة فوق البنفسجية للجزيئين متميز وكذلك الحال للتميم الأنزيمي NADPH.



شكل (8-1) طيف الامتصاص في المنطقة فوق البنفسجية للتميم الأنزيمي NAD بصيفته المؤكسدة NAD^+ والمختزلة NADH+

على الرغم من اختلاف NAD^+ عن $NADP^+$ بمجموعة الفسففات في الموقع 2 لنيوكلئوتيد الازدين بعيدا عن الموقع النشط ليشكل من الجزئيتين، إلا أن المسالك الأيضية التي يشتركان فيها تختلف بوضوح. يشترك NAD^+ بصورة رئيسة في عمليات التفويض catatbolic بينما يعمل $NADP^+$ في مسالك الأبناء. إن وجود مجموعة الفسففات في الموقع 2 يغير من قدرة التمييز NAD^+ و $NADP^+$ لربط الأنزيمات التي تحتاجها حيث أن لمعظم الأنزيمات المتطلبة للـ NAD^+ الفة واطئة للـ $NADP^+$ والعكس صحيح أيضاً. يوضح الجدول (6-1) بعض التفاعلات المحفزة بالأنزيمات المتطلبة للتمييمات NAD^+ أو $NADP^+$.

جدول (6-1) التفاعلات الأنزيمية المتطلبة للتمييمات NAD^+ أو $NADP^+$

الأنزيم	الركيزة	الناتج	التمييم الأنزيمي
Alcohol dehydrogenase	Ethano	Acetalehyde	NAD^+
Lsoctric dehydrogenase	Isocitrate	Ketoglutarate+ CO_2	NAD^+ $NADP^+$
Glycerolphosphate dehydrogenase	Sn- Glycerol -3- phosphate	Dihydroxyacetone phosphate	NAD^+
Lactic dehydrogenase	lactate	pyruvate	NAD^+
Malic enzyme	l- Malate	Pyruvate + CO_2	$NADP^+$
Glyceraldehyde3 phosphate dehydrogenase	Glyceraldehyde. 3 phosphate+ H_3PO_4	1.3-Diphosphoglyceric acid	NAD^+
Glucose 6 phosphate dehydrogenase	Glucose6- phosphate	-6 phosphogluoconic acid	$NADP^+$

الأنزيم	الركيزة	النتاج	التميم الأنزيمي
Glutamic dehydrogenase	LGlutamic acid	Ketoglutarate + NH ₃	NAD ⁺ NADP ⁺
Glutathione reductase	Oxidized glutathione	Reduced glutathione	NADPH
Quinone reductase	p-Benzoquinone	Hydroquinone	NADH NADPH
Nitrate reductase	Nitrate	Nitrite	NADH

تظهر الانزيمات التي تحتاج إلى المركب NAD⁺ أو NADP⁺ في عملها، عدة اساليب عمل مشتركة. تحفز مزيلات الهروجين Dehydrogenases المتطلبية للمركب NAD⁺ أو NADP⁺ أكسدة الكحولات. (الاولية والثانوية) والالدهيدات والأحماض الكربوكسيلية- الحاوية على مجاميع هيدروكسيل في الموقع الفا أو بيتا - والأحماض الامينية الفا. ويمكن انعكاس هذه التفاعلات بسهولة وهذا يعني بأن نيوكليوتيدات النكوتين اميد تستطيع تقبل الالكترونات مباشرة من الركيزة المختزلة ووهبها مباشرة إلى الركيزة المؤكسدة في تفاعل مزدود وهكذا يمكن ربط تفاعل اختزال الاسيتالدهيد إلى الاينانول بواسطة الخميرة (بوجود الأنزيم Alcohol dehydrogenase بتفاعل أكسدة الكلسرالدهيد-3- فسفات (بوجود الأنزيم Glyceraldehyde 3- phosphate dehydrogenase) ويحصل تفاعل مزدوج مشابه في أنسجة الحيوانات تتحول فيه البيروفات إلى اللاكتات:



يمنع النياسين الإصابة بمرض البلاغرا الذي يتجلى في الجلد والجهاز الهضمي والعصبي، ويجب تناول ما لا يقل عن 8.8 ملغم حامض النكوتيك لكل 1000 سعرة من الغذاء لتجنب النقص الغذائي للفيتامين.

يوجد حامض النكوتيك بصورة مرتبطة في الحبوب وخاصة الذرة ولا يمكن استغلاله من قبل الجسم إلا بعد استخلاصه إذ أنه مرتبط بعدد الببتيد وثابت تجاه الحوامض (ولكنه غير مستقر تجاه القواعد) بحيث لا تستطيع انزيمات الجهاز الهضمي أن تشطره عن الببتيد وبهذا لا يمكن الانتفاع منه.

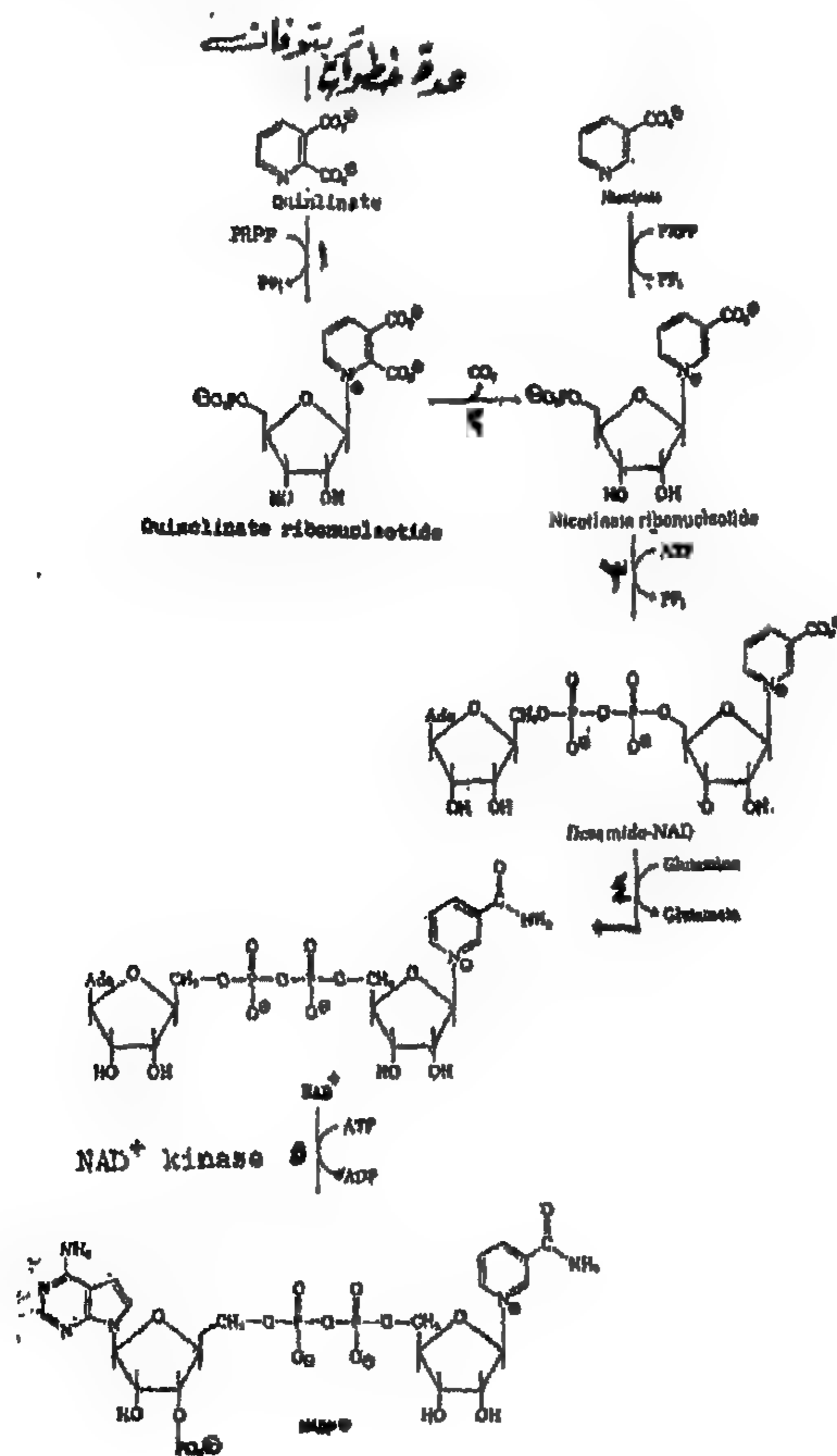
إن حامض النكوتيك مستقر جداً. وعند سلق الأغذية يفقد منه حوالي 15%. فقط. ومن الجدير بالذكر إن جسم الإنسان يتمكن من تحويل الحامض الأميني تريتوفان إلى النياسين وبناء على ذلك فإن مرض البلاكرا الذي يعد مؤشراً لنقص النياسين؛ يعد أيضاً مؤشراً لنوعية البروتينات المجهزة للإنسان.

1-4-3-2 التخليق الحيوي

يستطيع جسم الإنسان تخليق جزء من النياسين الذي يحتاجه من الحامض الأميني تريتوفان (شكل 1-9). يتحول التريوفان أولاً Quinolinate بعدة خطوات ثم يتحول الأخير إلى نيوكليوتيد الكوينولات Quinolinate ribonucleotide (تفاعل 1) الذي يفقد CO_2 ليتحول إلى Nicotinate ribonucleotide (تفاعل 2)،

يرتبط الأخير بوحدة ادنيلات Adenylate مصدرها ATP لتكوين NAD^+ - Desmido (تفاعل 3)، وعند انتقال مجموعة أميد مصدرها الكلوتامين إلى مجموعة الكربوكسيل للنكوتينات يتكون الـ NAD^+ (تفاعل 4) يتحول الـ NAD^+ إلى $NADP^+$ بفسفرته في الموقع 2 لوحدة الادنيلات للـ NAD^+ (شكل 9-1) بفعل الأنزيم NAD^+ kinase (تفاعل 5).

إضافة إلى ماذكر، تشير الأدلة العملية إلى وجود نظام لتخليق NAD^+ في المايكوبكتيريا ابتداء من النكوتيناميد وليس من نيوكليوتيد النكوتينات.



شكل 9-1 تخليق التميمين الأنزيمي NAD^+ و $NADP^+$

من الحامض الأميني تريثوفال

1-4-3-3 تعيين النياسين

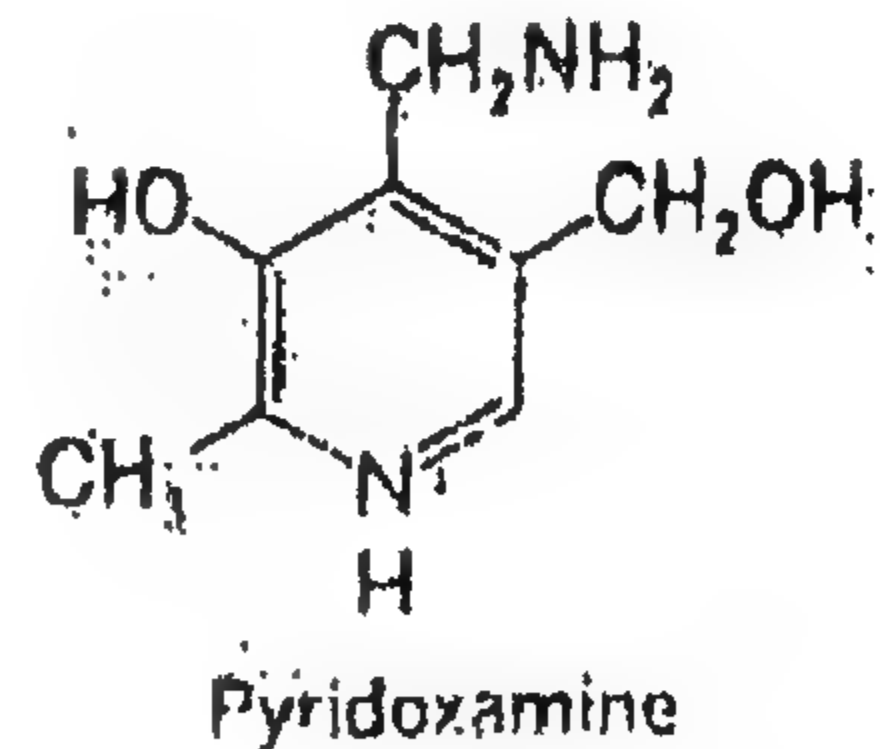
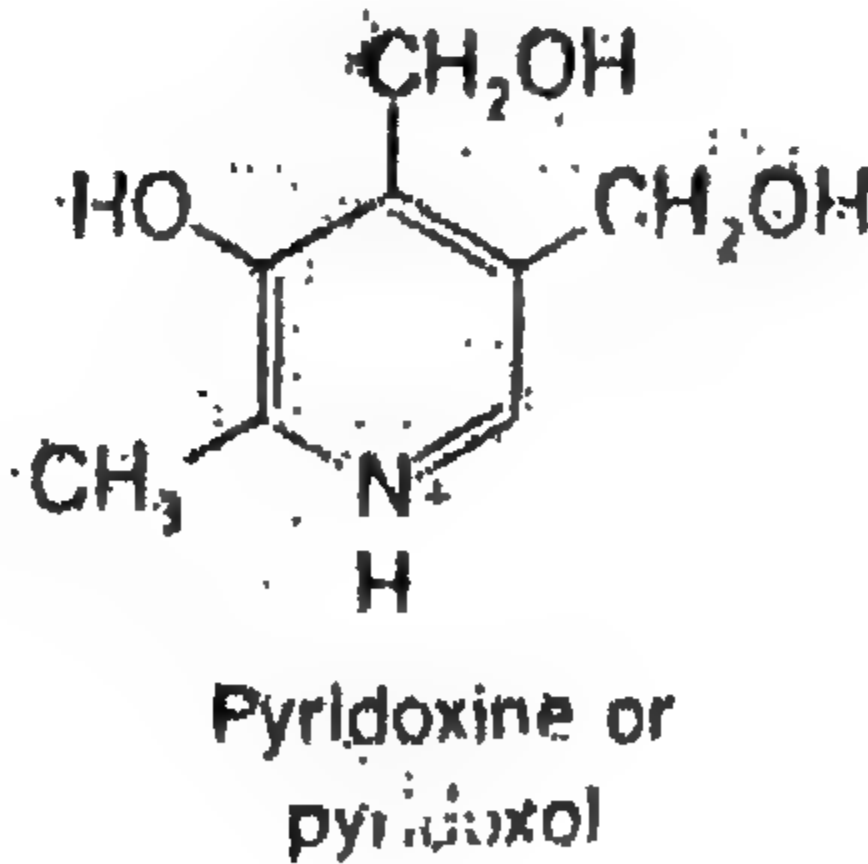
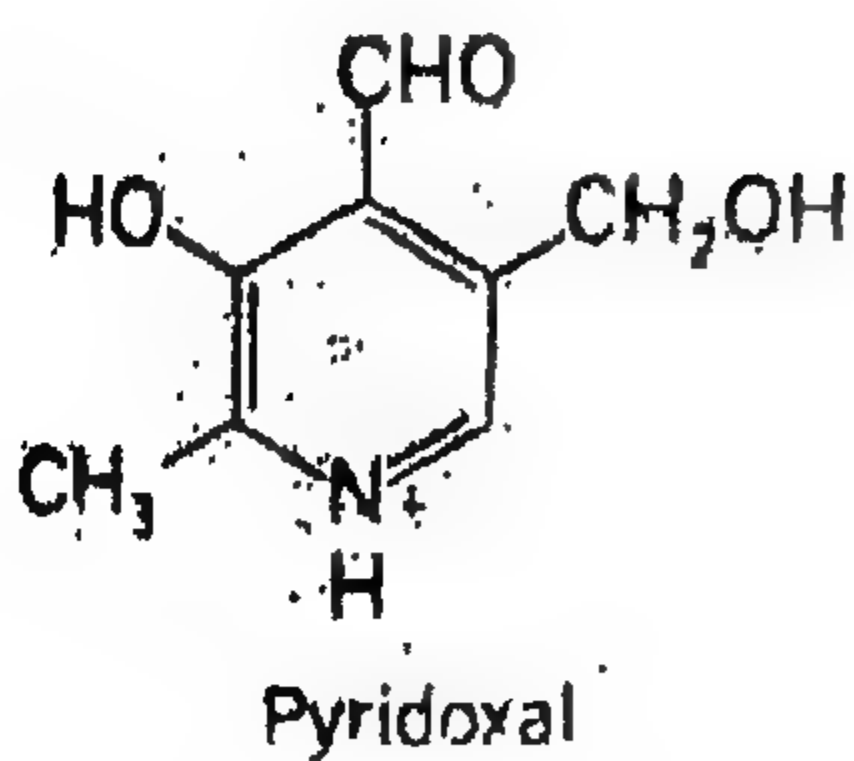
يمكن تعيين حامض النيكوتيك أو أميده باختبارات الحيوانات أو الاختبارات الحيوية المجهرية (بواسطة *Lactobacillus arabinosus*) ولهذا الغرض يجب أولاً تحرير حامض النيكوتيك أو أميد حامض النيكوتيك من مشتقاتهما باستخدام القاعدة مثلاً.

تعتمد الطرق الكيماوية المستخدمة لتعيين حامض النيكوتيك والنيكوتين أميد على تفاعل KONIGS pyridine (مشتق البريديين) مع بروميد السيانونوجين أو كلوريد السيانونوجين وأمين اروماتي.

تتخطم حلقة البريديين بهذا التفاعل، وينتج عن تفاعل مشتق البريديين مع السيانونوجين مركبا يتفاعل بدوره مع الامين الاروماتي لتكوين صباغ البولي ميثاين (polymethine) الصفراء.

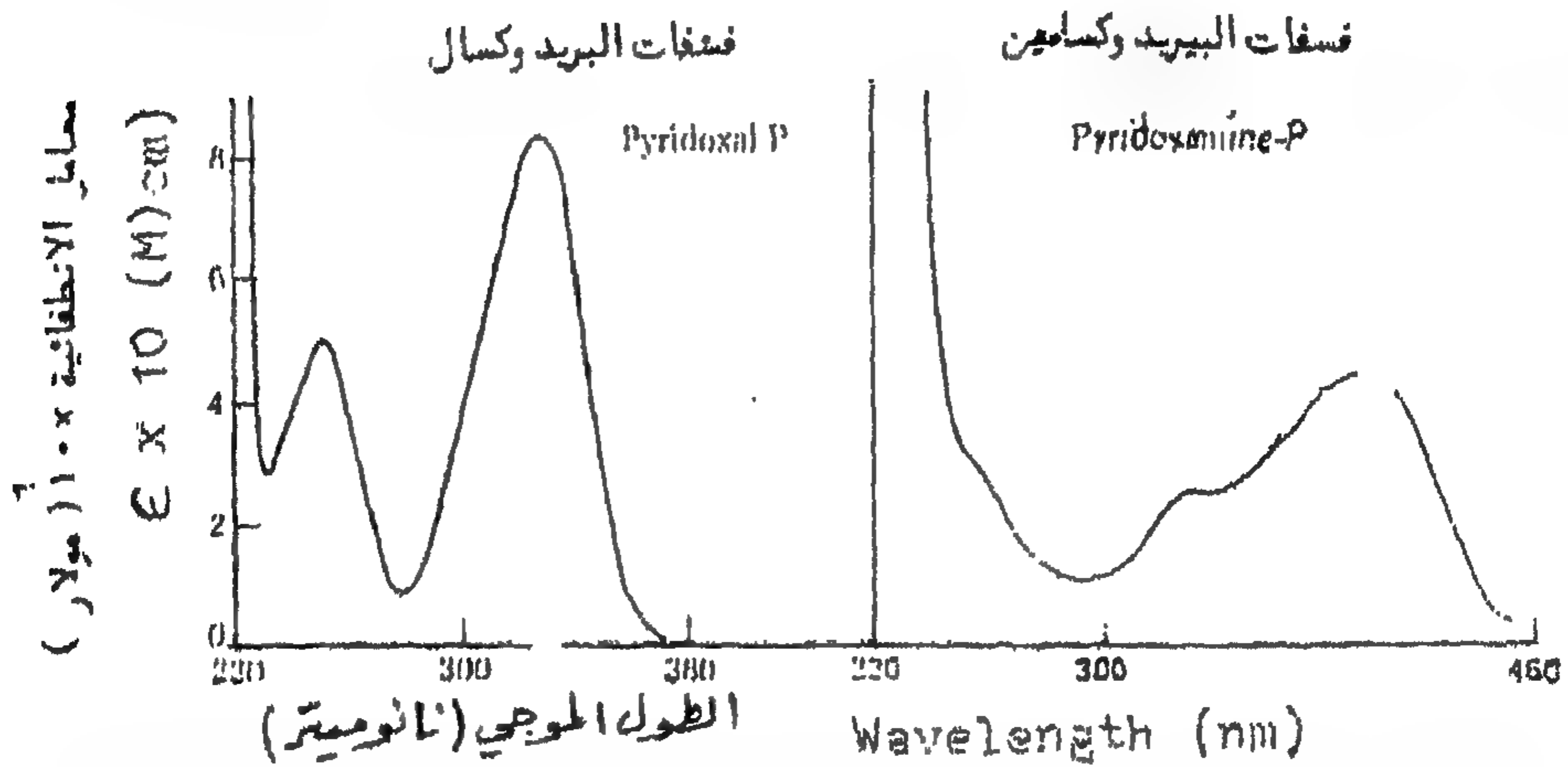
1-4-4 مجموعة فيتامين B₆ (بريدوكسين)

تعطى التسمية بريدوكسين- في نظام التسمية العالمية. إلى ثلاثة مركبات وثيقة الصلة ببعضها وهي pyridoxal و pyridoxamine و pyridoxol. توجد هذه المركبات سوية في المملكة النباتية وأما في المملكة الحيوانية فيوجد البريدوكسال والبريدوكسامين في الأغذية الحاوية على فيتامين B₆: الحليب وصفار البيض والخميرة والحبوب والخضروات الخضراء.



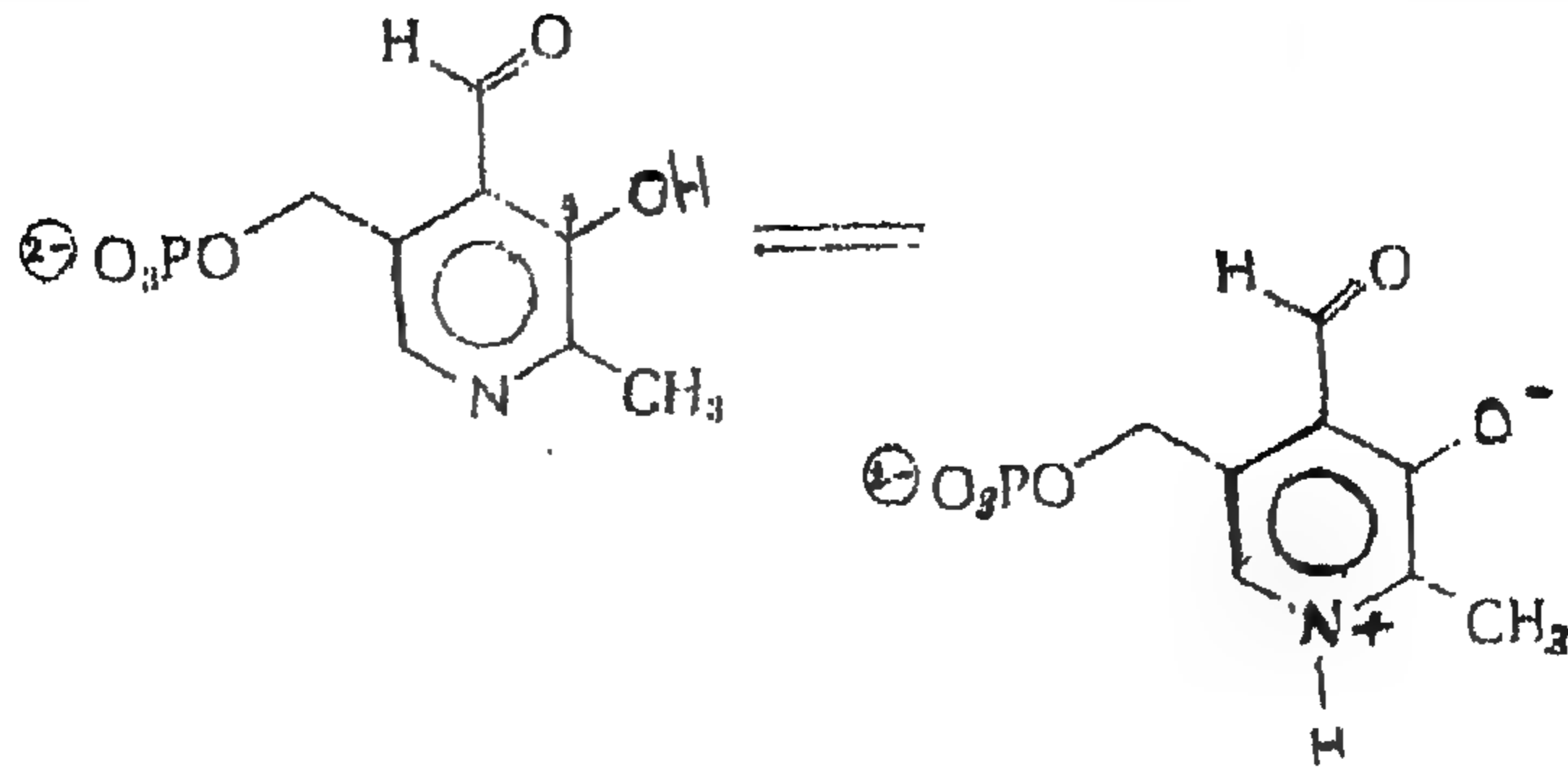
إن الصيغة الاعتيادية التجارية لفيتامين B₆ هي البريدوكسول pyridoxol الذي يتحول بسهولة في الحي In Vivo إلى بريدوكسال بسهولة أكسدة كحولات البنزلك Benzylic alachols.

تمثل فسفات البريدوكسال pyridoxal phosphate الصيغة الفعالة للفيتامين وتنتج عن فسفرة مجموعة الهيدروكسيل المعرضة في الموقع 5. يوضح الشكل (10-1) طيف الامتصاص لفسفات البريدوكسال وفسفات البريدوكسامين.



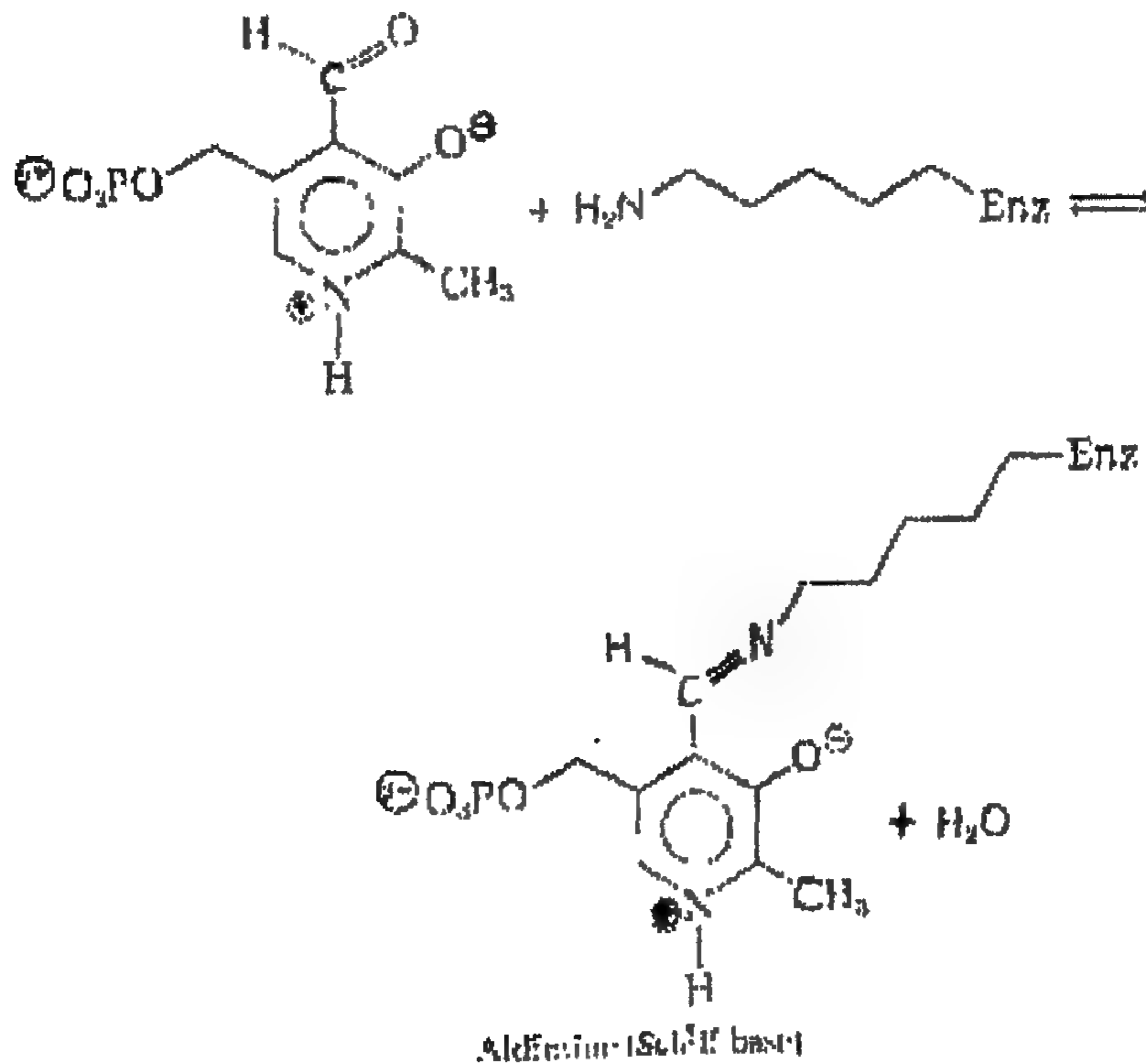
شكل 10-1 طيف الامتصاص لفسفات البريدوكسال وفسفات البريدوكسامين في المنطقة فوق البنفسجية

تكون فسفات البريدوكسال بصيغة ايون ثنائي القطبية في الرقم الهيدروجيني 7.0 حيث تكون مجموعات الهيدروكسيل في الموقع 3 متأينة فيما تكون نتروجين حلقة البريديدين مبرتقة protonated (انظر المعادلة 16-1).



(16 -1)

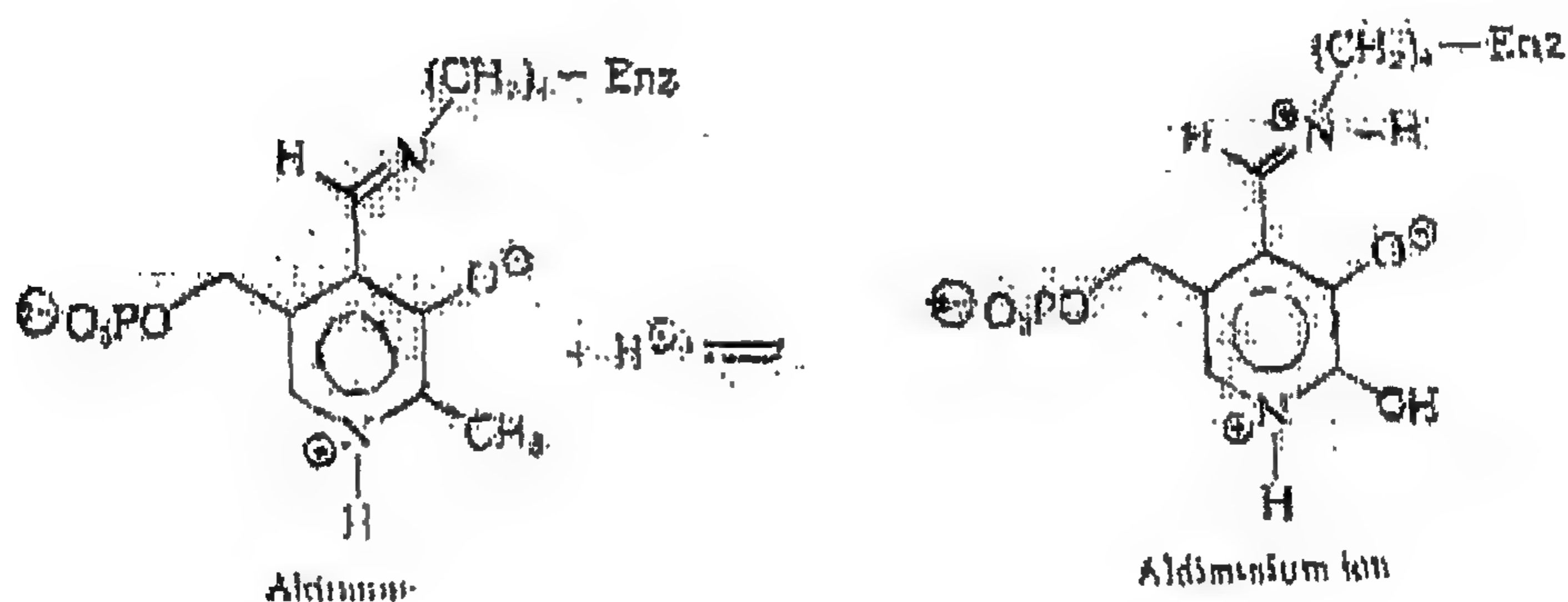
تكمّن آلية عمل فسفات البريدوكسال بمثابة تميم أنزيمي بتفاعل الكربون الكريونيلي شحيح الالكترونات مع مجموعة امينو لشماله اللايسين في الموقع النشط للأنزيم لإعطاء قاعدة Schiff أي Aldimine بين الأنزيم وفسفات البريدوكسال.



(17-1) الدمين (قاعدة شف)

إن نيتروجين الأمين قاعدية، وفي الرقم الهيدروجيني 7.0 تحصل حالة موازنة بين الالدامين Aldimine وايون الإلدامنيوم المبرتن protonated aldiminium ion الذي تثبت شحنته الموجبة بذرة الأوكسجين سالبة الشحنة في الموقع 3 لحلقة البريديين.

يعمل أيون البريدينيوم موجب الشحنة سوية مع نيتروجين الأمين موجب الشحنة بمثابة حوض الكتروني في التفاعلات المحفزة بفسفات البريدوكسال. تثبت حلقة فوسفات البريدوكسال الأروماتية. الكاربانيونات Carbanions من خلال النظام II الساحب للإلكترونات.



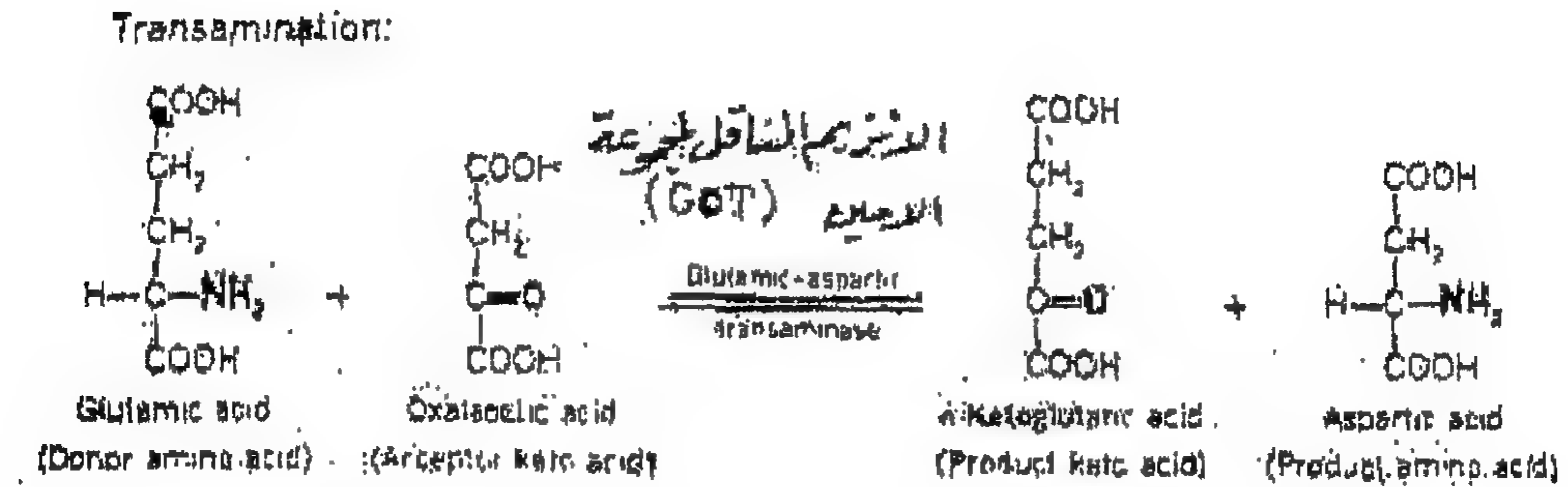
(18 -1)

1-4-4-1 التفاعلات الانزيمية المحفزة بفسفات البريدوكسال

يوجد التميم الانزيمي فوسفات البريدوكسال بصورة رئيسة في الأنزيمات المحفزة لبعض التفاعلات الأيضية للأحماض الأمينية وكمثال الأنزيمات للكربوكسيل من الأحماض الأمينية Amino acid decarboxylases وناقلات مجموعة الأمين Aminotransferases وورزيمات الأحماض الأمينية Amino acid racemases.

تساهم فسفات البريدوكسال في حول حامض التوليك إلى حامض الإراكدونك ويعتقد بأن قاعدة Schiff هي المركب الوسيط في التفاعلات المختلفة هذه بينما يسيطر صميم الأنزيم Apoenzyme على الناتج النهائي للتفاعل.

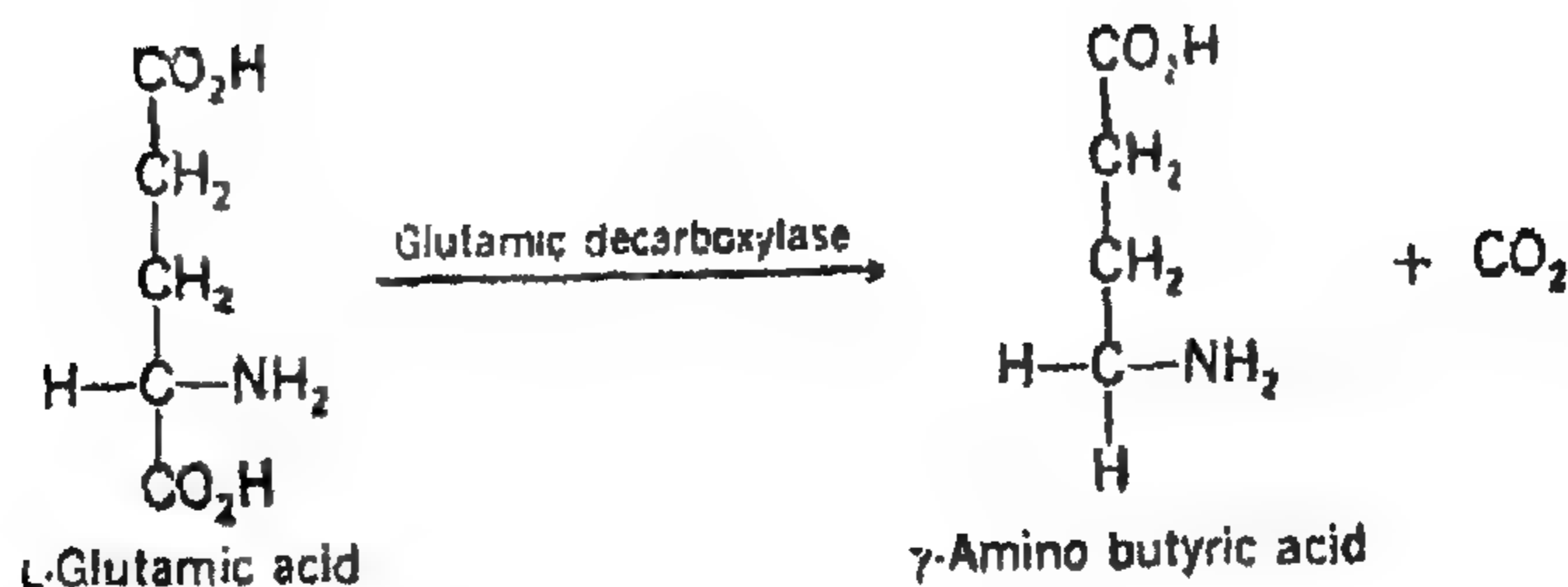
تمثل المعادلة (19-1) عملية نقل مجموعة الأمين من حامض أميني إلى حامض الفا- كيتو بوجود فسفات البريدوكسال والأنزيم الناقل لمجموعة الأمين وتمثل المعادلة (20-1)



(19-1)

تفاعل إزالة مجموعة الكربوكسيل من الحامض الأميني كلوماتك. ويحصل هذا التفاعل في الدماغ حيث يثبط حامض كاما أمينوبيوتريك نقل الإيعازات العصبية.

Decarboxylation



(20-1)

توضح المعادلة (21-1) التحول العكوس للحامض الأميني كلوتاميك بين الصيغتين D و L.

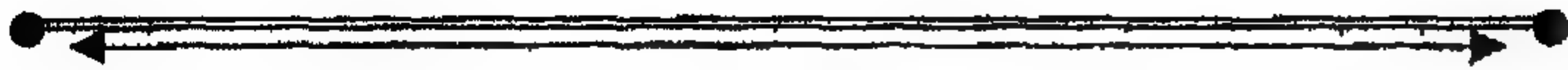
Racemization:



(21-1)

توضح المعادلة (21-1) التحول العكوس للحامض الأميني كلوتاميك بين الصيغتين D و L.

ولتفصيل ميكانيكية هذه التفاعلات نشير إلى الشكل 11-1 فعند وجود الأنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين Transaminases تحصل سلسلة التفاعلات (a) الموضحة في الشكل 11-1. أما مزيلات الكربوكسيل الفا-Decarboxylases فتحصل سلسلة التفاعلات (b)، وتحدث سلسلة التفاعلات (c) عند توفر أنزيمات Racemase نوعية (شكل 11-1).

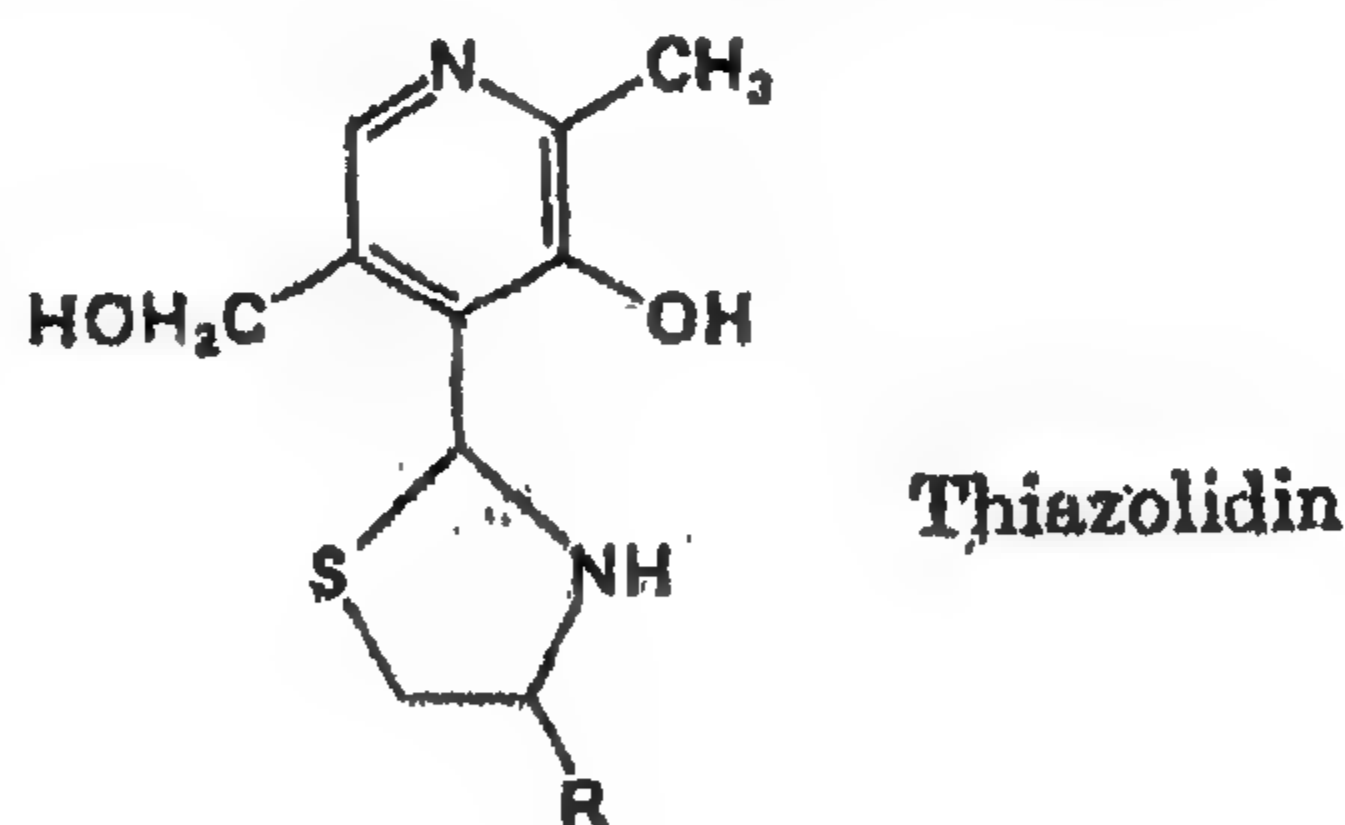


يحتوي الأنزيم *phosphorylase a* ثمانية فسفات البيريدوكسال مرتبطة بالأنزيم من خلال المجموعة ايبسلون-امينو لثمانية لايسين. تؤدي معاملة الأنزيم بمادة بوروهيدريد الصوديوم (NaBH_4) إلى اختزال الأمين إلى الأمين. أن الاختزال يؤدي إلى فقدان فعالية جميع الأنزيمات المعتمدة على فسفات البيريدوكسال إلا الأنزيم *phosphorylase*.

ويحتمل أن يكون التميم الأنزيمي فسفات البيريدوكسال جوهرياً للحفاظ على هيئة فعالة للأنزيم، ويعتقد بأن الفعالية التحفيزية للتميم فسفات البيريدوكسال- أن وجدت- قد تتعلق بجموعة الفسفات التي يمكن أن تعمل بمثابة محفز قاعدي، فهي مدفونة في المنطقة الهيدروفوبية للأنزيم على بعد حوالي 0.7 نانوميتر من الموقع النشط. يحفز الأنزيم *phosphorylase* نكوص Degradation الكلايكونجين وتكوين كلوكوز 1- فسفات في خطوات متتالية حتى يتكون ما يسمى *limit dextrin*.

1-4-4-2 فيتامين B_6 والتغذية

يحتاج الإنسان في غذائه إلى 2-3 ملغم فيتامين B_6 في اليوم الواحد وغالباً ما تتوافر هذه الكمية في الغذاء الاعتيادي وقد تزداد حاجة الجسم للفيتامين كما في حالة المرض أو زيادة سرعة التفاعلات الأيضية أو عند زيادة تناول البروتينات.



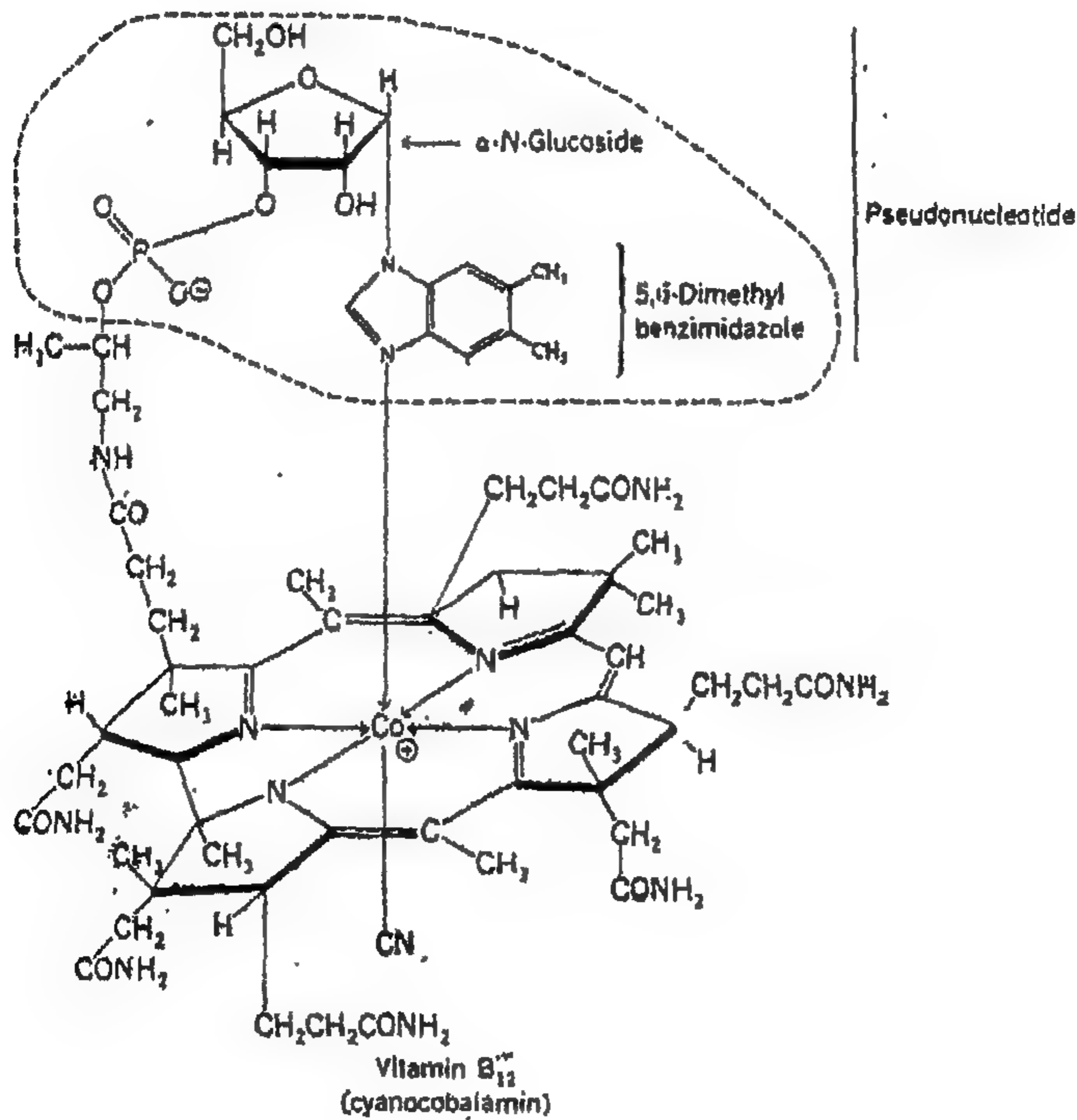
إن أكثر صيغ الفيتامين استقراراً هو البيريدوكسال ولهذا يستخدم في تدعيم الأغذية. يفقد 45% من فيتامين B_6 في اللحم المطبوخ و 20-30% في الخضراوات المطبوخة، وعند تعقيم الحليب، يتفاعل الفيتامين مع الحامض الأميني Cysteine

لتكوين المركب غير الفعال Thiazolidin الذي يعد السبب لفقدان فعالية هذا الفيتامين في بقية الأغذية.

يؤدي نقص فيتامين B₆ إلى نمط معين من التهاب الجلد وإلى اضطرابات عصبية وفي الحيوانات الفتية، يؤدي نقص الفيتامين إلى اختلال في النمو وتلف الغدد التكاثرية وتغيرات في الكلى.

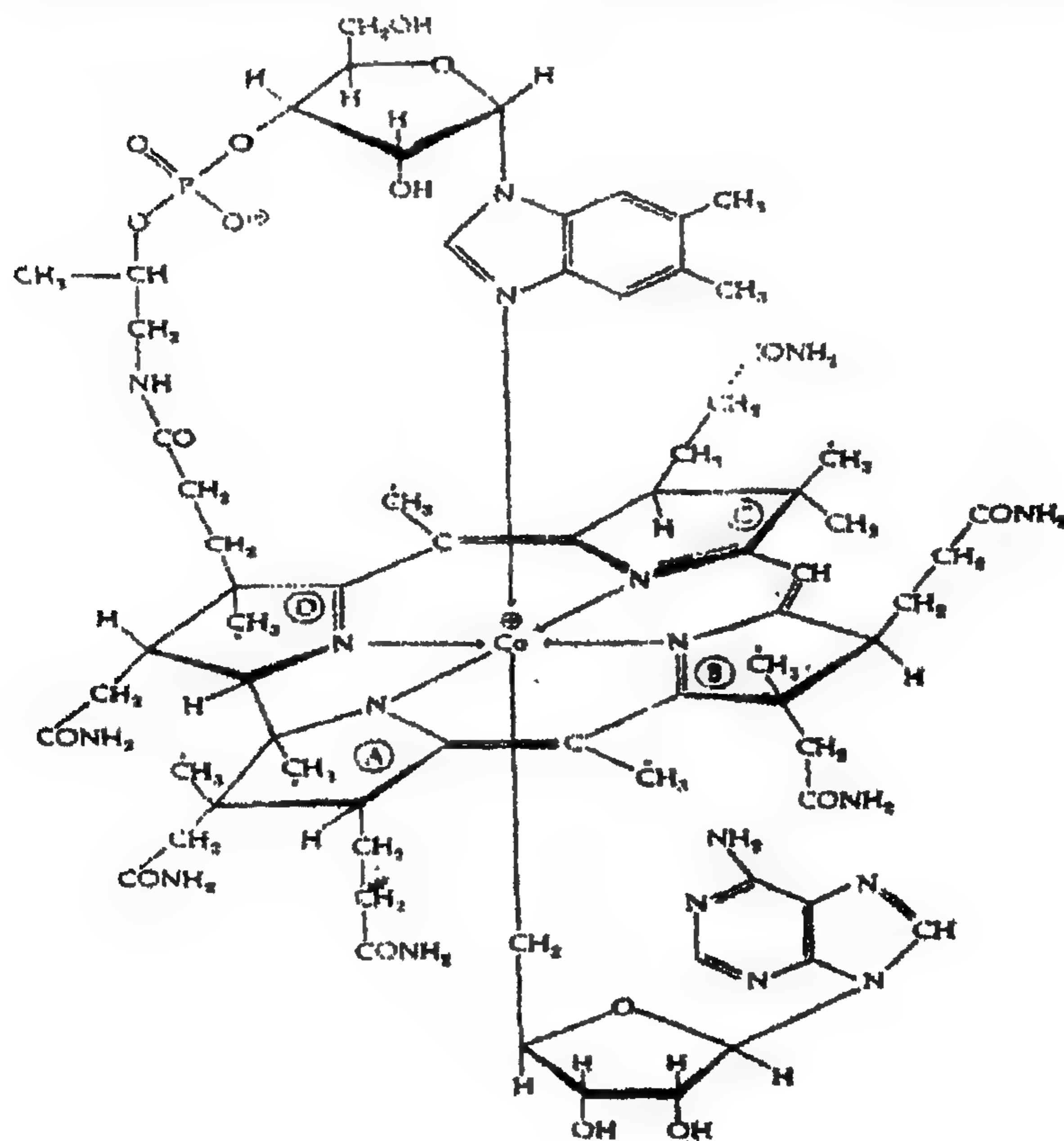
1-4-5 مجموعة فيتامين B₁₂ (كوبالامين)

أهم مركبات هذه المجموعة فيتامين B₁₂ أوسيانكوبالامين. تحتوي هذه الجزيئة المعقدة على تركيب يشبه حلقة البورفيرين التي نجدها في تركيب الهيموغلوبين أو الكلوروفيل إلا أن التركيب الحلقي لفيتامين B₁₂ يرتبط تساهمياً بأيون كوبالت ثلاثي التكافؤ.



1-4-5 وجوده

يوجد فيتامين B_{12} في الحيوانات والأحياء المجهرية بصيغة تميم أنزيمي يسمى تميم الأنزيم B_{12} ، ويختلف عن فيتامين B_{12} بعدم وجود مجموعة السيانو وإرتباط أيون الكوبلت مباشرة بذرة الكربون رقم 5 لثمالة الريبوز المرتبطة بالادينين. إن هذا الارتباط الفلزي العضوي مثير للاهتمام ذلك لأن مجموعة المثلين تشكل المركز الفعال في هذا التميم الأنزيمي (شكل 1-12). لا تحتوي النباتات فيتامين B_{12} .



Coenzyme B_{12} :
cobamide coenzyme

شكل 1-12 تميم الأنزيم B_{12} (التميم الأنزيمي كوباميد)

التميم الأنزيم غير مستقر نسبياً ويتفكك بوجود الضوء أو السيانييد إلى

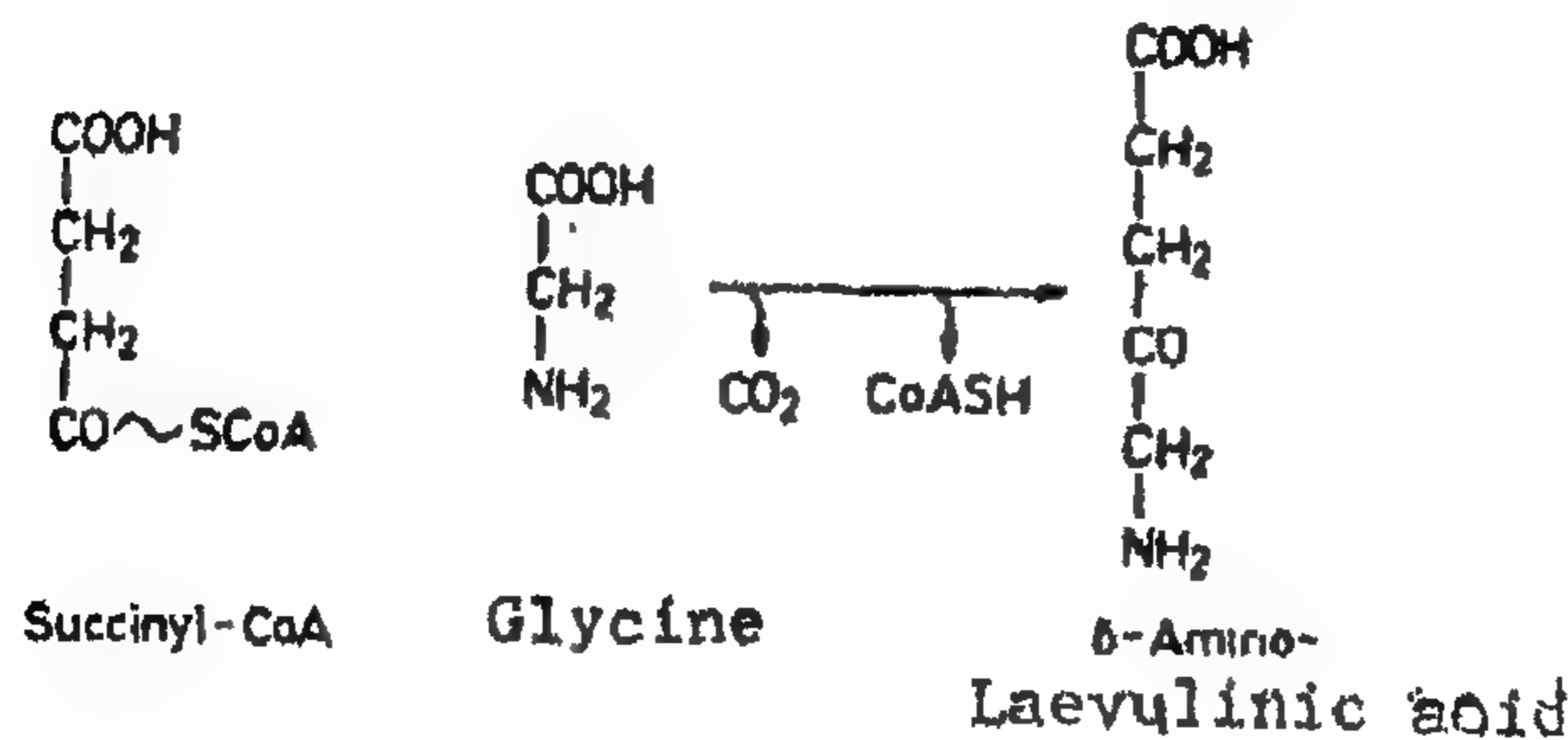
هيدروكسي كوبالامين أو سيانو كوبالامين على التوالي ولهذا يعتقد بأن فيتامين B₁₂ يوجد في الطبيعة بصورة رئيسية بشكل تميم الأنزيم.

يعتمد ثبات فيتامين B₁₂ على عدة عوامل فهو مستقر في درجات حرارة عالية إذا وجد في الرقم الهيدروجيني 4-6. يفقد الفيتامين ثباته في الرقم الهيدروجيني القاعدي وعند وجود مواد مختزلة مثل حامض الاسكوربيك و SO₂

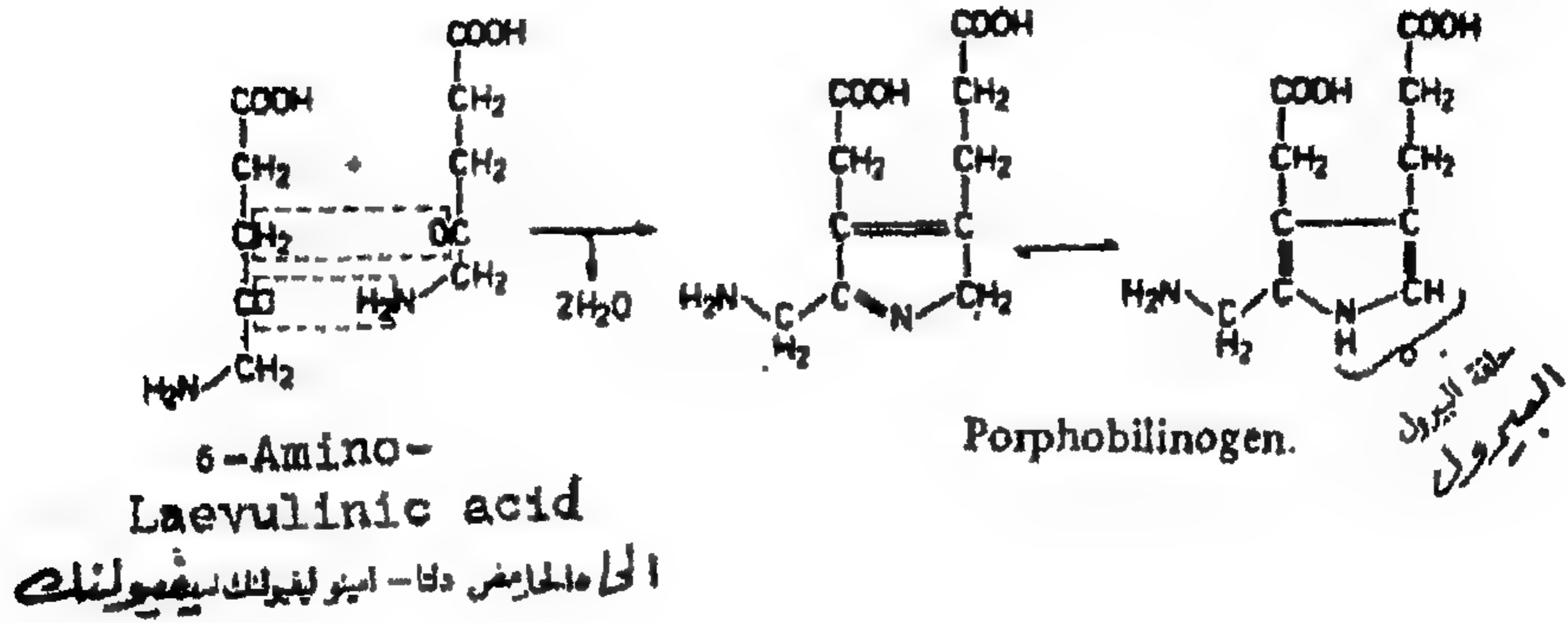
1-4-5-2 التخليق الحيوي لفيتامين B₁₂

لا تستطيع الحيوانات الراقية أو النباتات الزهرية تخليق فيتامين B₁₂ وتعد الكائنات المجهرية الموجودة في التربة أو الماء أو الأمعاء مصادر لهذا الفيتامين. تحتاج عدة كائنات مجهرية فيتامين B₁₂ لنموها وبذلك تعد أساس الطريقة الحيوية المجهرية لتعيين الفيتامين.

تستطيع البكتريا الشبيهة بالعفن التي تنتمي إلى جنس Actinomy cetes مثل propionibacterium Shermanii أو Streptocomyces olivaceus تخليق فيتامين B₁₂ وتبتديء العملية بتخليق حلقات الكورين Corrín من المركب سكسنيل- تميم الأنزيم (succinyl CoA) A الذي ينتج بدوره في دورة kerbs للحامض ثلاثي الكربوكسيل (دورة حامض الستريك). يتكاثف سكسنيل- تميم الأنزيم (succinyl CoA) A مع الكلايسين لتكوين الحامض دلتا- أمينو ليفيولنك- Aminolaevulinic acid ويتكاثف جزيئتين

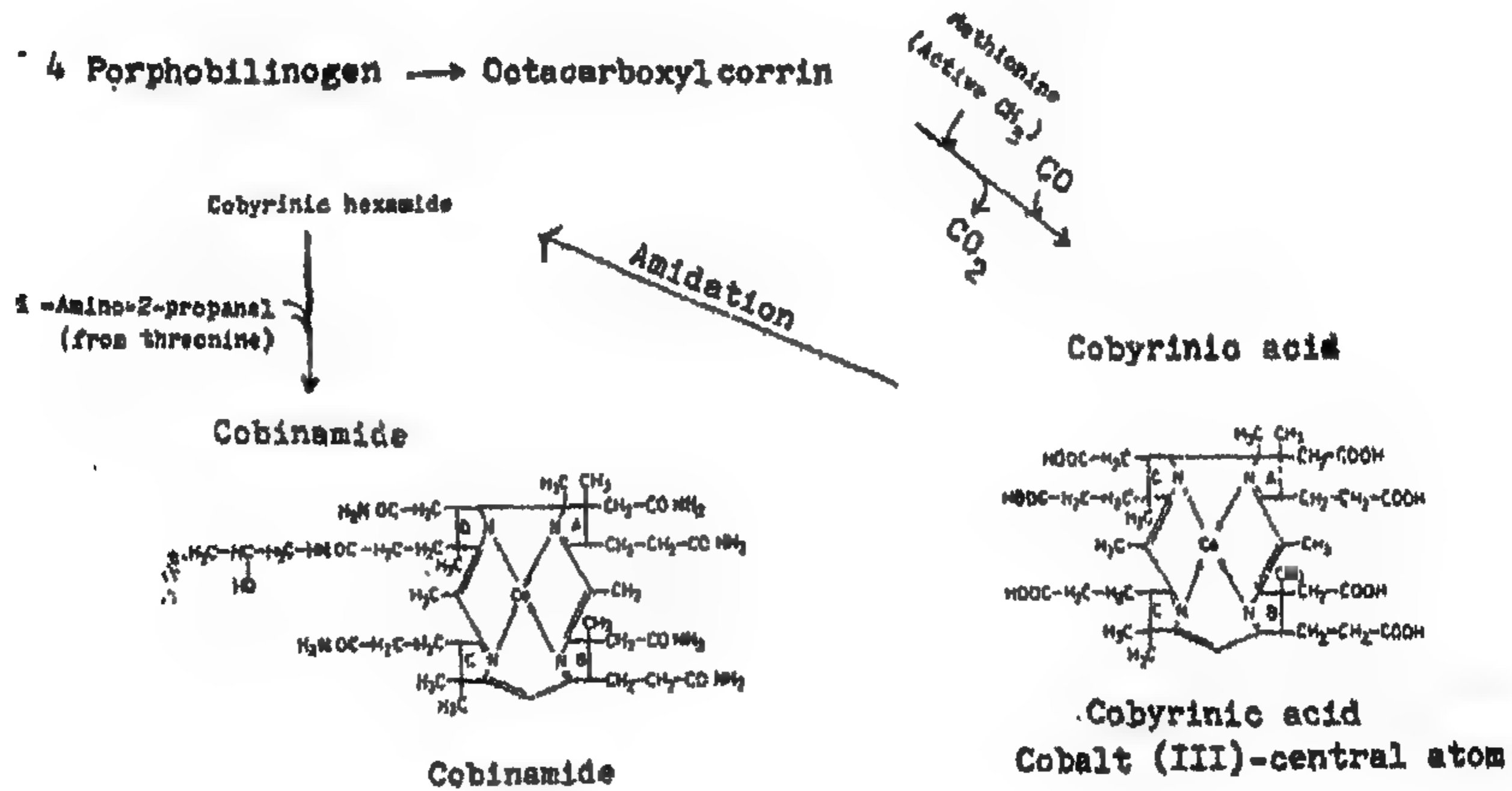


من -aminolaevulinic- يتكون المركب porphobilinogen وبذلك يتم
تخليق حلقة البيرول pyrrol ring.

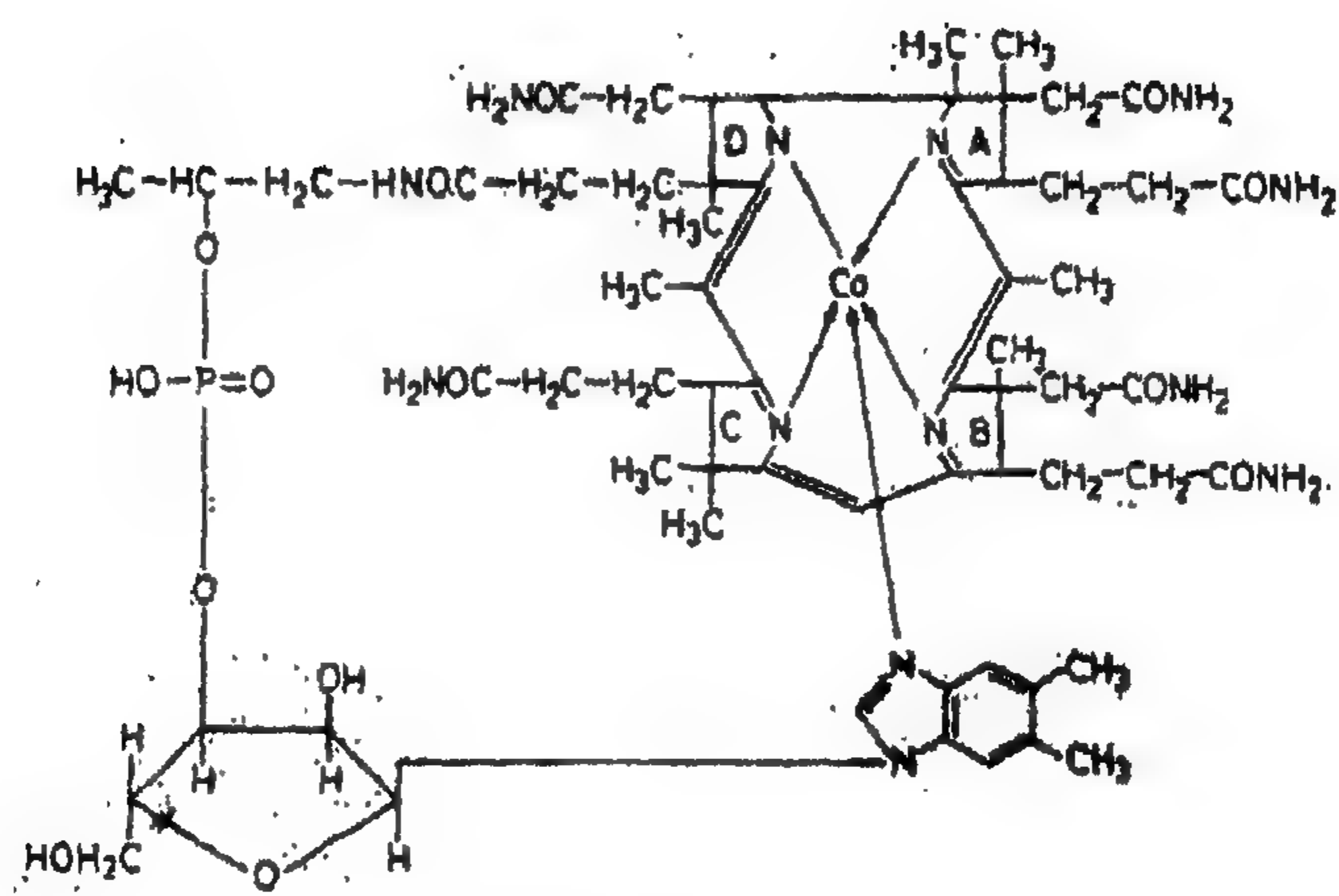
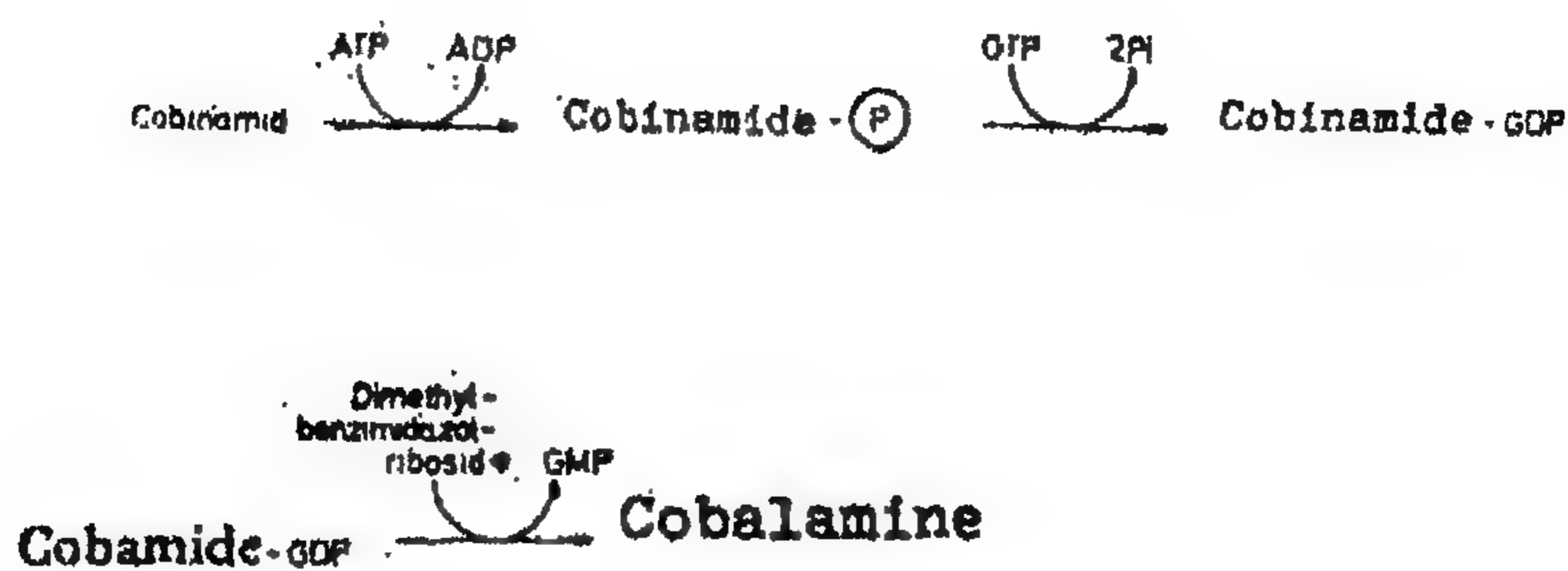



(22 -1)

يتكون المركب Cobinamide يتكاثف أربع حلقات porphobilinogen
ويعتقد بأن العملية تتم كالآتي:



يتم بعد ذلك فسفرة Cobinamide إلى Cobinamide phosphate ثم
تنشيطه بربطه بشمالة GDP لتكوين GDP-Cobinamide ويتفاعل الأخير مع
1-Dimethylbenzimidazol riboside يتكون Cobalamine:



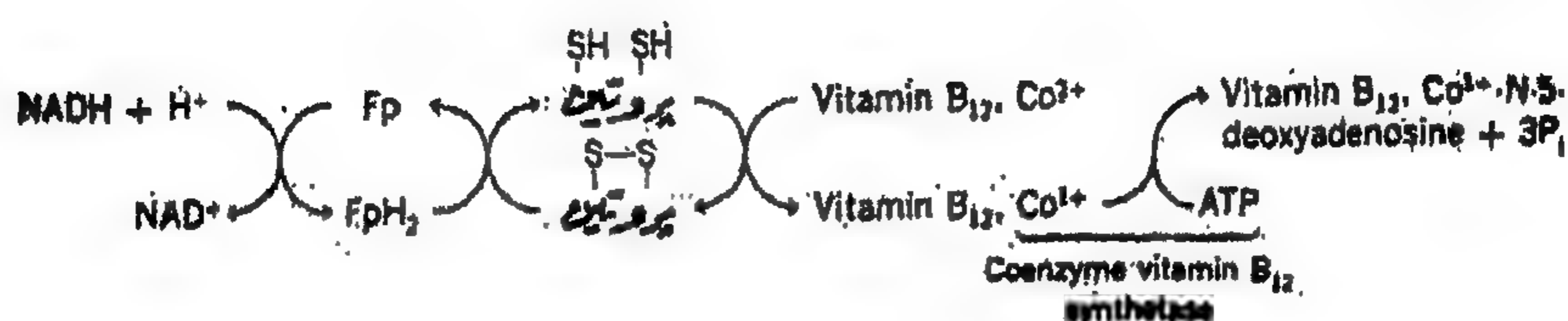
Cobalamine \equiv 
 5,6-Dimethyl-benzimidazol

1-4-5-3 الوظيفة الكيميائية الحيوية

إن فيتامين B_{12} المتناول في الغذاء يرتبط في الجهاز الهضمي بمادة يفرزها الغشاء المخاطي للمعدة تسمى (العامل الجوهري) وتكوين هذه المادة جوهرياً لامتصاص فيتامين B_{12} من الأمعاء وبدونها لا يمكن امتصاص كميات كافية من الفيتامين.

يدخل فيتامين B_{12} في عدة تفاعلات حيوية في الكائنات العليا ومنها ما

يدخل في أيض الكربوهيدرات أو الأحماض الأمينية أو البروتينات، إن الحاجة لفيتامين B_{12} ضئيلة جداً وربما حوالي 1 ميكروغرام في اليوم ولهذا نادراً ما يحصل نقص في فيتامين B_{12} في الإنسان إلا عند النباتين ذلك لأن النباتات مصادر فقيرة به، وعند نقصان B_{12} يصاب الإنسان بفقر الدم الوبيل pernicious anemia يساهم فيتامين B_{12} بشكل التميم الانزيمي كوباميد Cobamide Coenzyme في عدة تفاعلات حيوية ويمكن تخليقه من الفيتامين كما في التفاعل الآتي:



(25-1)

يحفز التفاعل أنزيم B_{12} Coenzyme Synthetase أن نظام الاختزال لهذا التفاعل معقد ويشتمل على فلافوبروتين يحوي NADH وثنائي الكبريتيد - flavoprotein disulfide- NADH ينقل العامل المختزل NADH الكترولونات من خلال الفلافوبروتين إلى البروتين ثنائي الكبريتيد لتكوين بروتين الثايول SH.SH الذي يحول فيتامين $CO_2 + B_{12}$ ويصبح هذا الشكل المختزل ركيزة لتفاعل الالكلة مع المركب $ATP >$

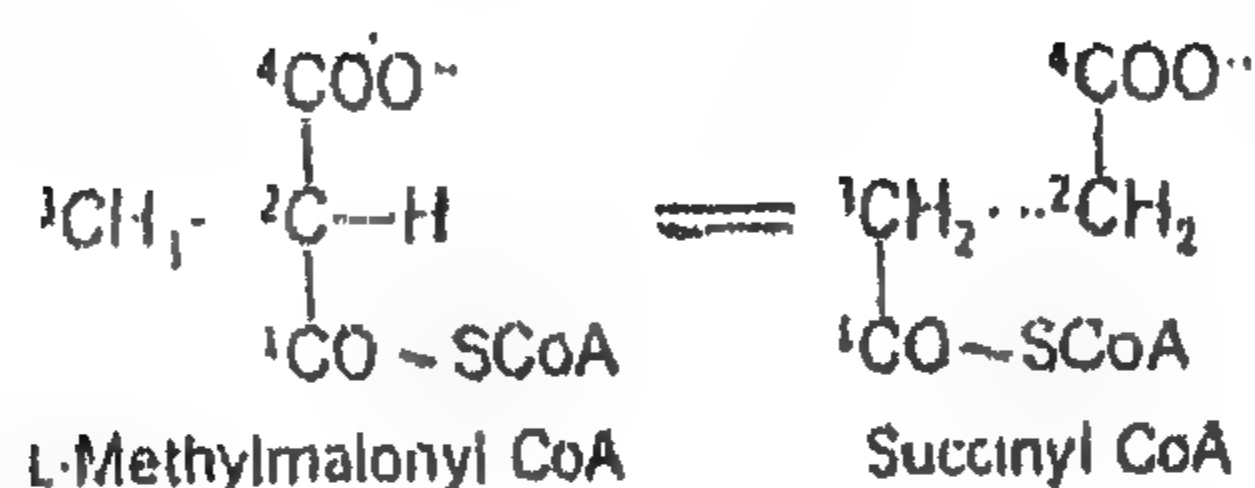
يسهم تميم الأنزيم B_{12} حوالي أحد عشر تفاعلاً مميزاً إضافة إلى تفاعلات يتم فيها اختزال المعقد $CH_3 - enzyme - Vitamin B_{12}$ إلى ميثان أو كربكسلته لتكوين استات. ومن جميع هذه التفاعلات، لا يحصل في الحيوانات إلا ذلك المحفز بالأنزيم Methyl malonyl CoA mutase فيما تحصل جميعها في البكتيريا حيث تم اكتشافها. ولم التعرف على تفاعل أنزيمي متطلب لفيتامين B_{12} في النباتات لحد الآن.

يمكن وضع تفاعلات تميم فيتامين B₁₂ في أربعة أنظمة رئيسية:

أ- شطر آصرة C-C

مثال:

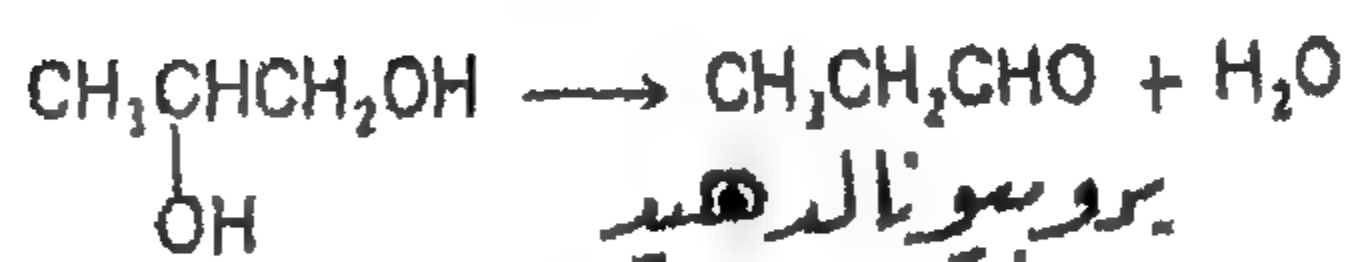
التفاعل المحفز بالأنزيم L-Methylmalonyl CoA mutase وهو أحد الأنزيمات في مسلك أكسدة الأحماض الدهنية ذات العدد الفردي لذرات الكربون.



(26-1)

ب- شطر آصرة C-O

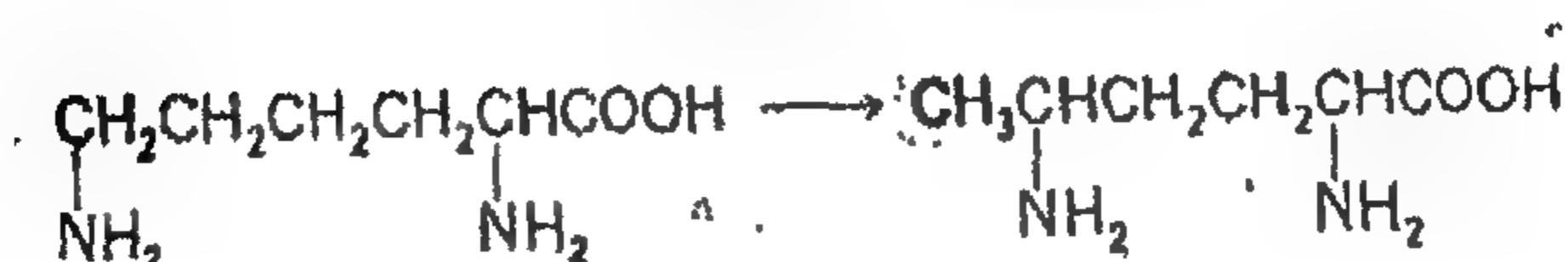
مثال: التفاعل المحفز بالأنزيم Diol dehydrase



(27-1)

ج- شطر آصرة C-N

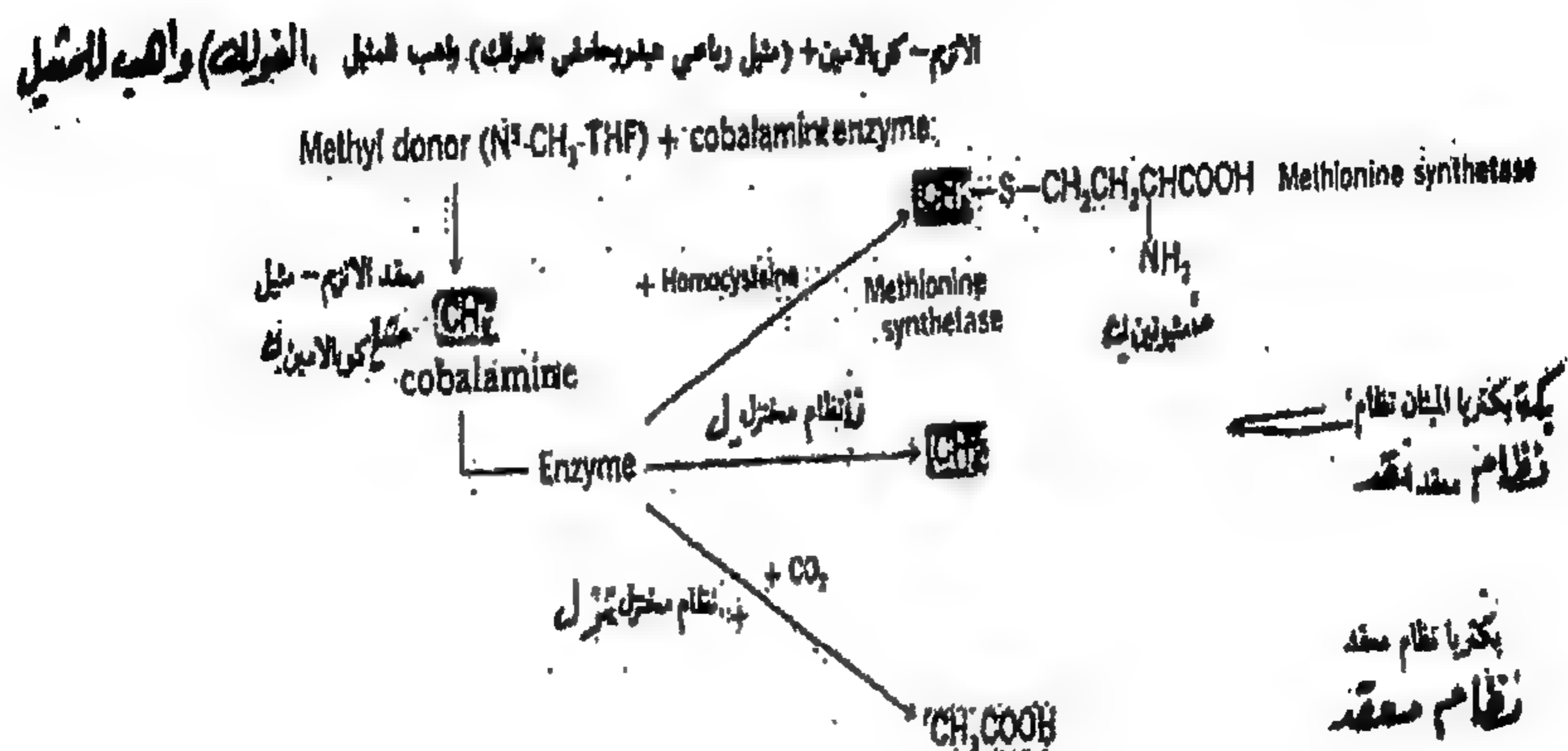
مثال: التفاعل المحفز بالأنزيم D-α-lysine mutase



اللايسين

(28-1)

د- تنشيط المثيل



(1-29) پرويوناالدهيد لايستين

4-5-4-1 تعیین فیتامین B₁₂

تستخدم عادة الطرق الكيميائية والحياتية لتعيين فيتامين B_{12} . وفي بعض الأحيان لا تكون الطرق الكيميائية ناجحة إلا بعد تركيز الفيتامين وإزالة المواد المتداخلة وطريقة تعيينه.

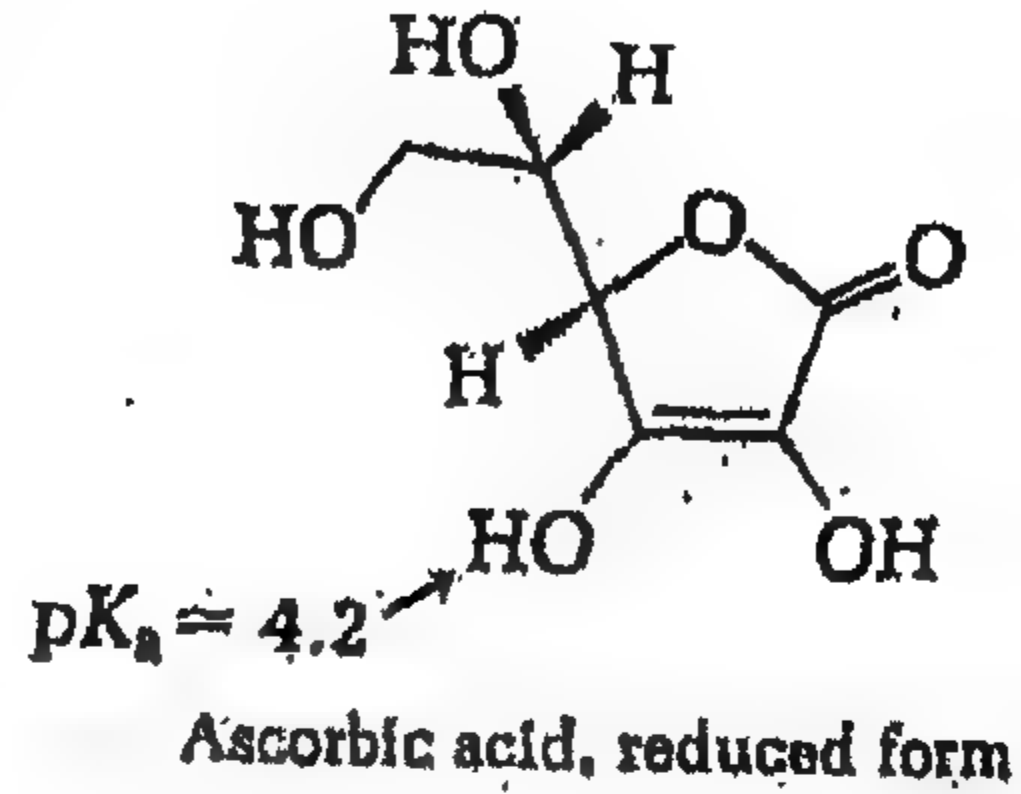
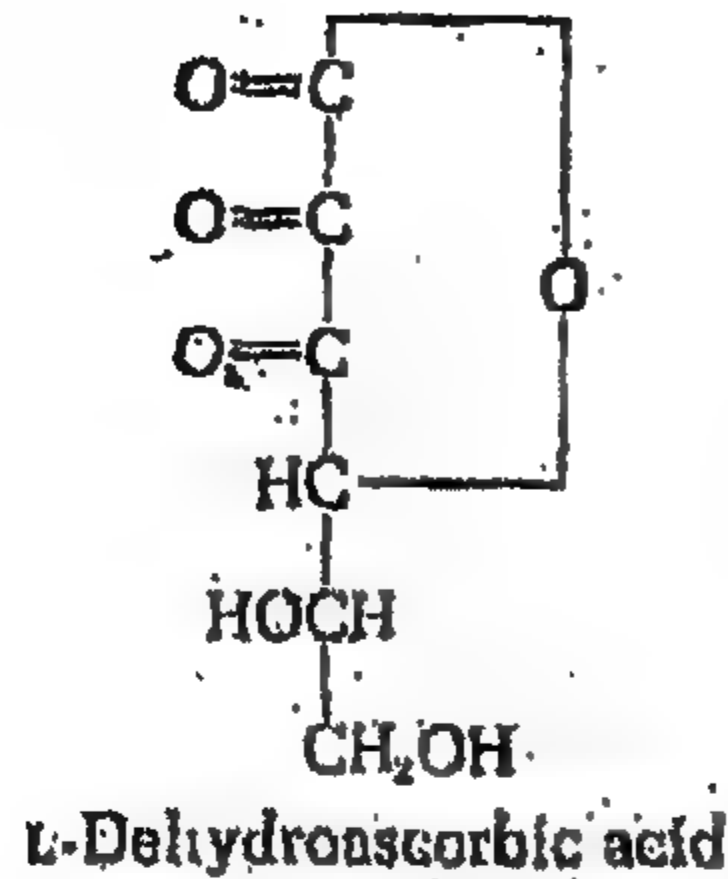
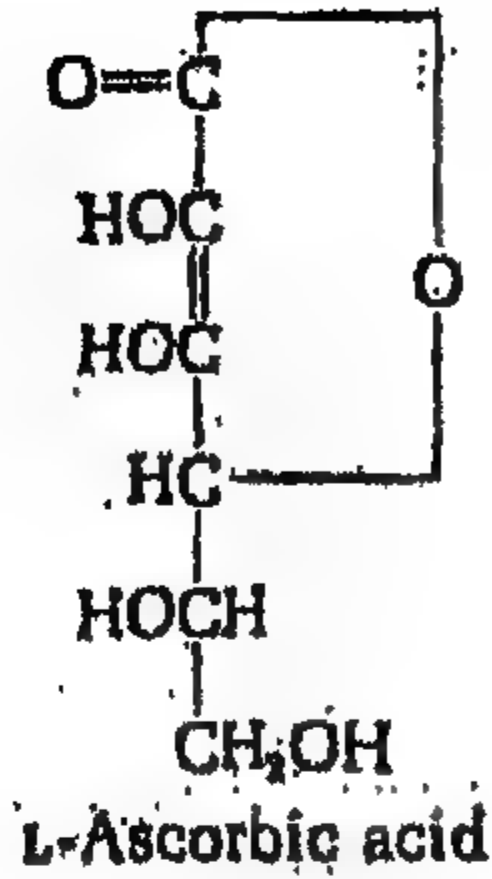
في الطرق الحديثة للتعين، يستخدم فيتامين B₁₂ الموسوم بالنظير المشع بمثابة معيار داخلي Internal standard. ثم يتم حساب كمية الفيتامين المفقودة من الغذاء من خلال قياس الفقدان في الفعالية الحيوية. إن الطرق الحيوية عادة شديدة الحساسية بحيث لا تحتاج إلى تركيز الفيتامين تمهيداً لتعيينه.

6-4-1 فيتامين C (حامض إل-أسكوربيك L (+) Ascorbic acid)

حامض إل-اسيكوريك Lthreo-hexono-1.4- lactone- 2 ene مادة بلورية
بيضاء (درجة انصهارها 192°م) فعالة ضوئياً (في الماء: $D = +23^{\circ}$).

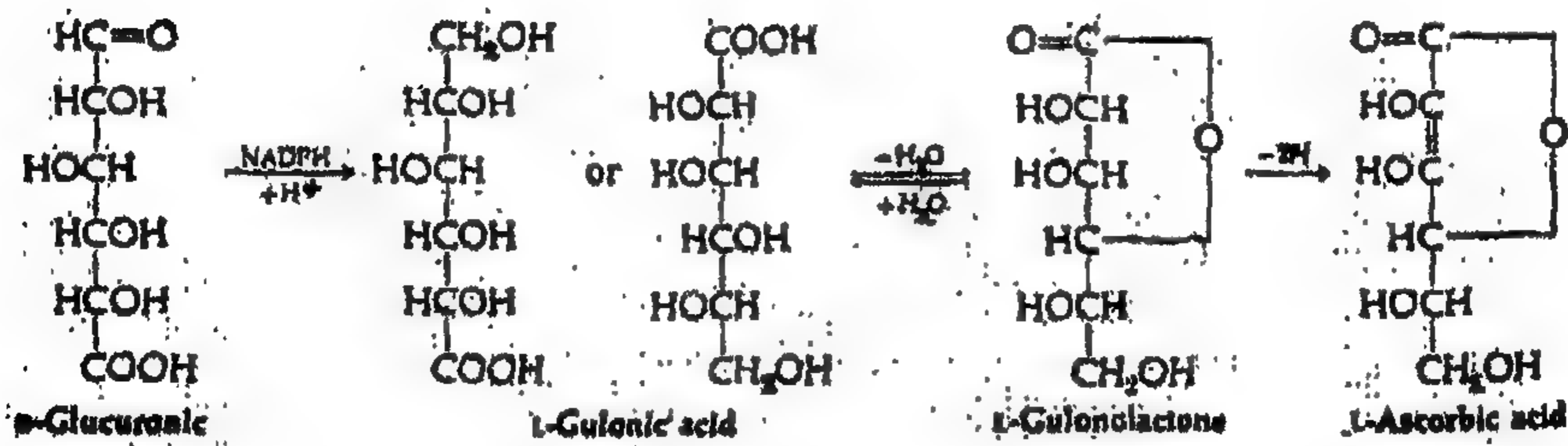
تشكل الفواكة الطازجة والخضراوات مصادر غذائية مهمة له وبصورة

عادة تكون الخضراوات الورقية الخضراء غنية به كما تحتوي على كميات كبيرة نسبياً من الفيتامين.



1-6-4-1 تخليق حامض إل-أسكوربيك

حامض الاسكوربيك جوهري للإنسان وللمقدمات Primates الأخرى. ولخنازير غينيا وللخنازير والأسماك وعدة طيور وبعض الحشرات إلا أنه يمكن تخليقه من قبل حيوانات أخرى. إن الخطوات الرئيسية في تخليق حامض الإسكوربيك في الحيوانات كالآتي:

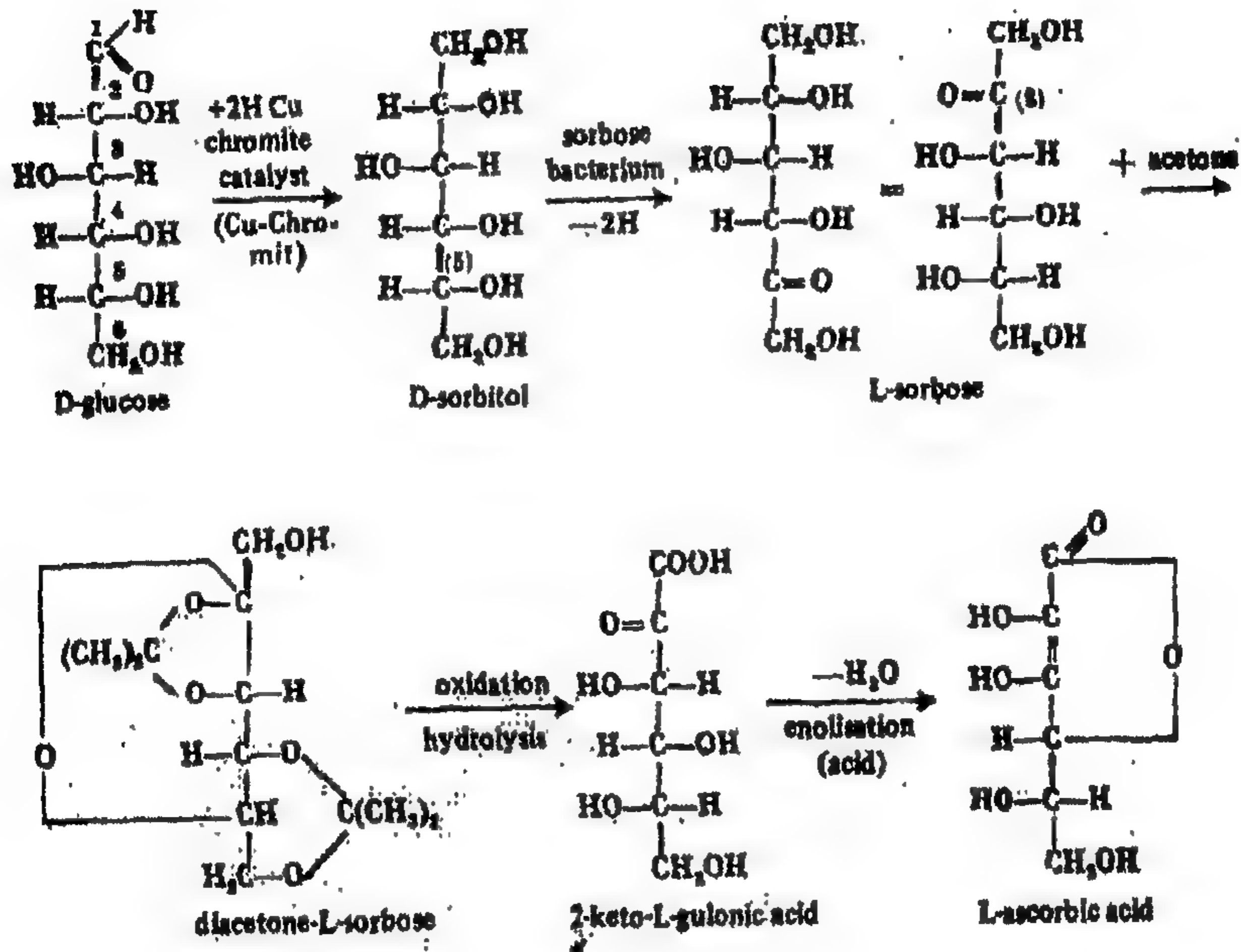


(1-13) الخطوات الرئيسية في تخليق حامض الاسكوربيك ابتداء من حامض الكلوكيورونيك

تفتقر المقدمات primates وخنازير غينيا إلى الأنزيم المرتبط بالتميم FAD والذي يحول Glucnolactone إلى حامض الإسكوربيك (شكل 1-13).

1-4-6-2 الإنتاج الصناعي لحامض الإسكوريك

يبتدي التركيب الصناعي لفيتامين C من الكلوكوز خلال D-Sorbitol ثم Sorbose-L ثم 2-ketogulonic acid الذي يتحول مباشرة إلى حامض الإسكوريك (شكل 1-14).



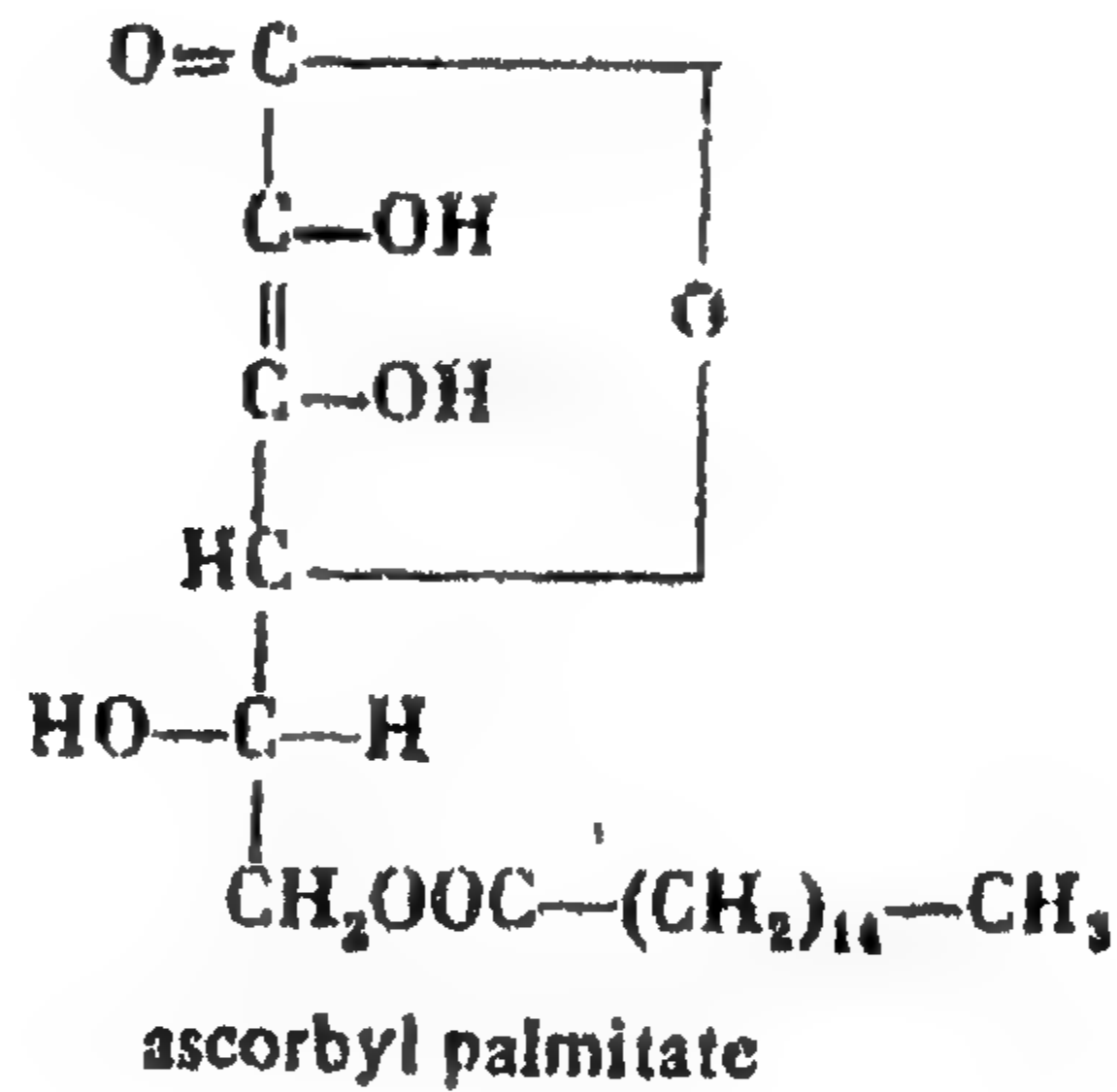
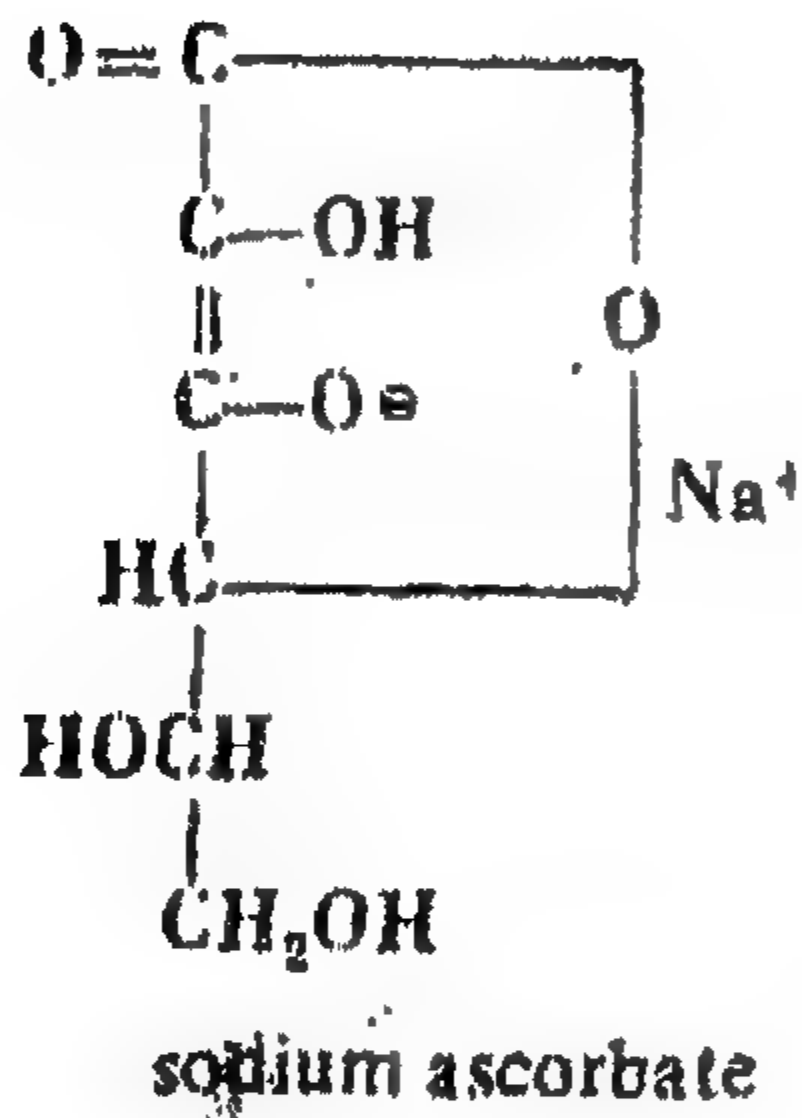
شكل 1-14 التركيب الصناعي لفيتامين C L-ascorbic acid

ابتداء من الكلوكوز

تؤدي هدرجة الكلوكوز إلى تكوين D-Sorbitol. يتم تحول D-Sorbitol إلى L-Sorbose باستخدام البكتريا Acetobacter التي تؤدي إلى أكسدة مجموعة OH مجاورة إلى مجموعة OH مشابهة لها في شاكلتها Configuration وهذا ما نجده عند ذرات الكربون 5.4 للسوربيتول. إن خصوصية الأكسدة هذه جعلت الطريقة مستخدمة لتوضيح شاكلة السكريات المختلفة.

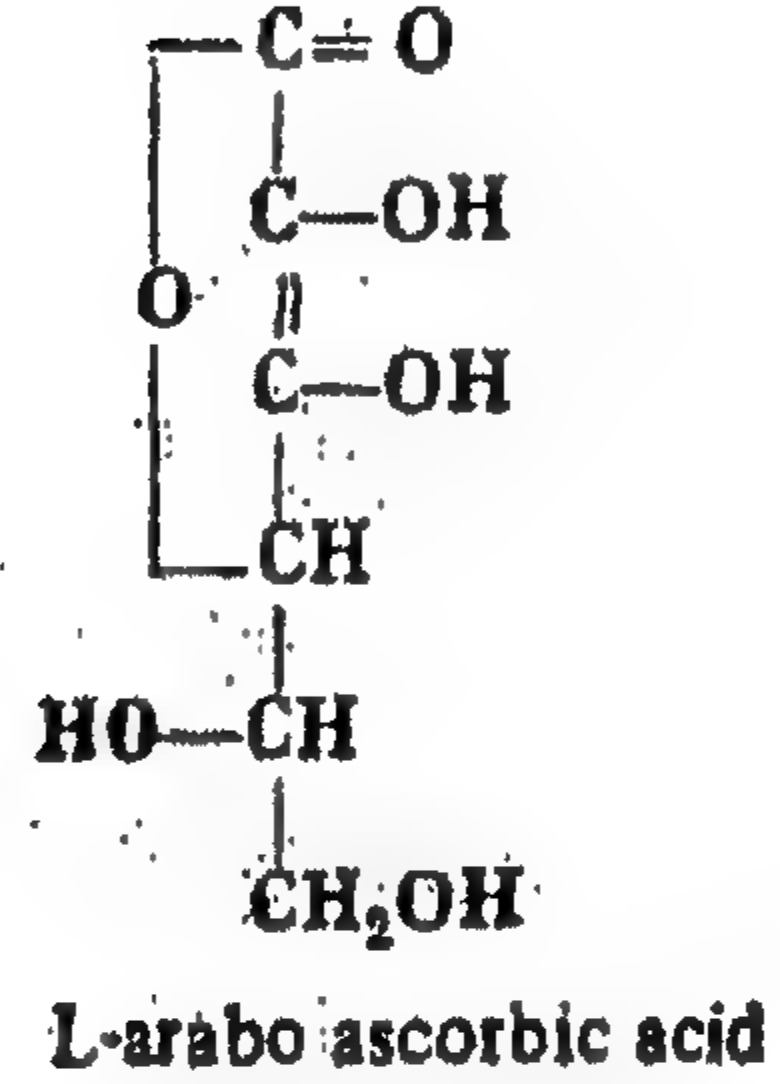
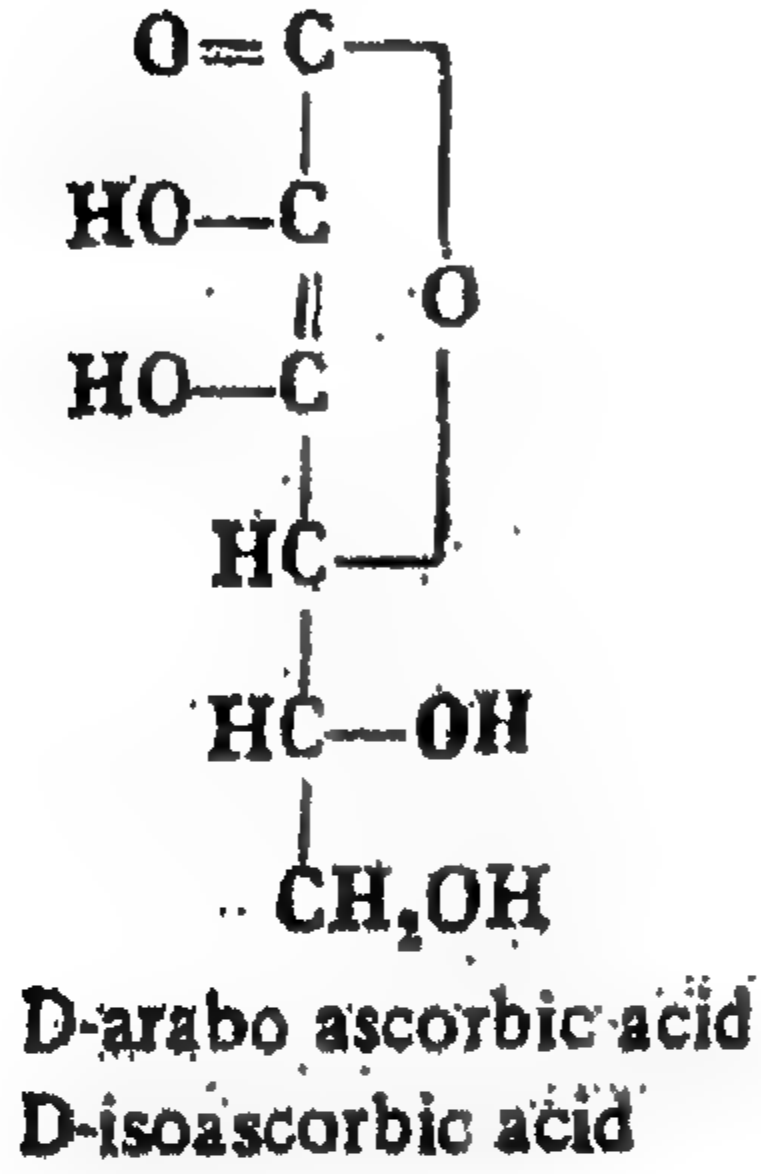
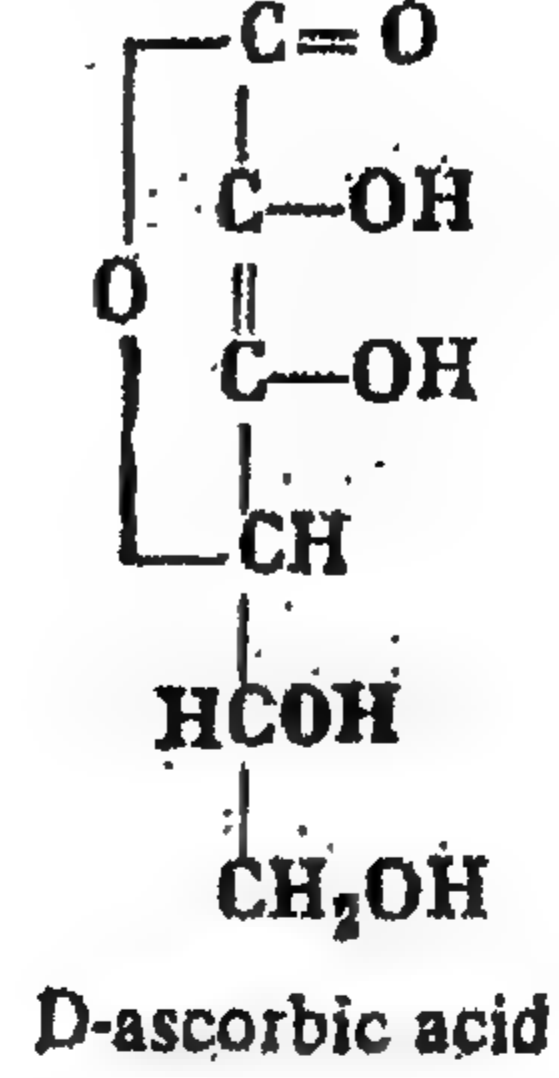
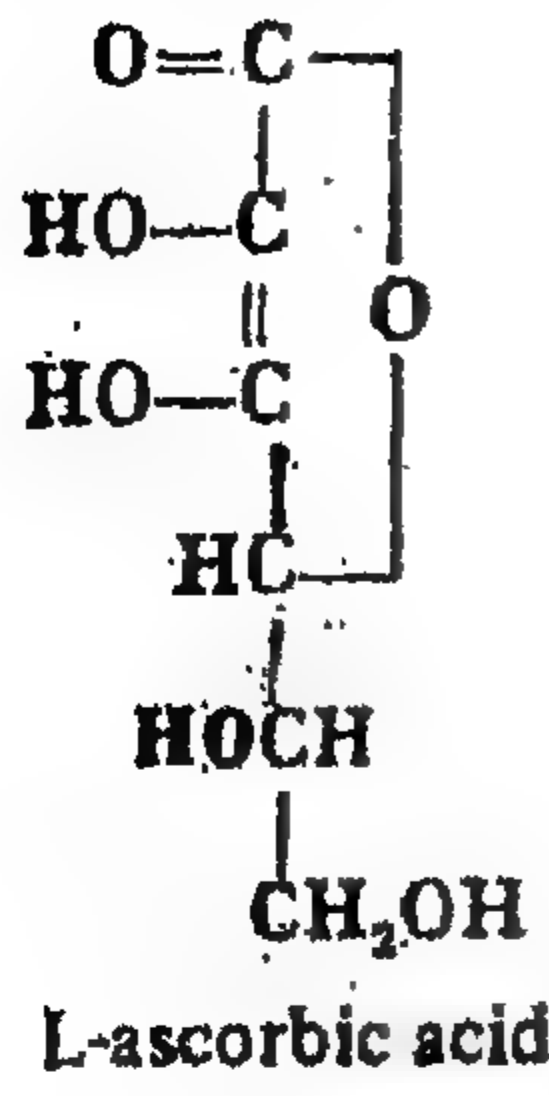
تتم خطوة الأكسدة التالية L-Sorbose-2-keto-L- gulonic مباشرة بالأوكسجين بوجود البلاتنوم أو خلال مشتق ثنائي الاستون باستخدام برمنجنات البوتاسيوم. يؤدي التحلل المائي بوجود الحامض إلى شطر ثمالة Residue استون. يتحول الحامض keto-L- gulonic-2 إلى صيغة الاينول ثم اللاكتون لتكوين حامض الإسكوريك (شكل 1-14).

يمكن استرة مجاميع OH الكحولية لحامض الإسكوريك مع الأحماض الدهنية لتكوين مثلاً Ascorbyl palmitate القابلة للذوبان في الدهون وبذلك تستخدم مضادا للأكسدة في الصناعات الغذائية.



كما وأن الحامض D-Isoascorbic يمثل واحداً من أربعة ايزومرات فراغية (شكل 1-15) لحامض الإسكوريك وهو مضاد للأكسدة مهم وقابل للذوبان في الماء.

يمكن تحضير حامض D-Isoascorbic صناعياً بالتخمير الهوائي للكلوكوز وبواسطة بعض أنواع الـ penicillium بنسبة 40% للسكر المستخدم.

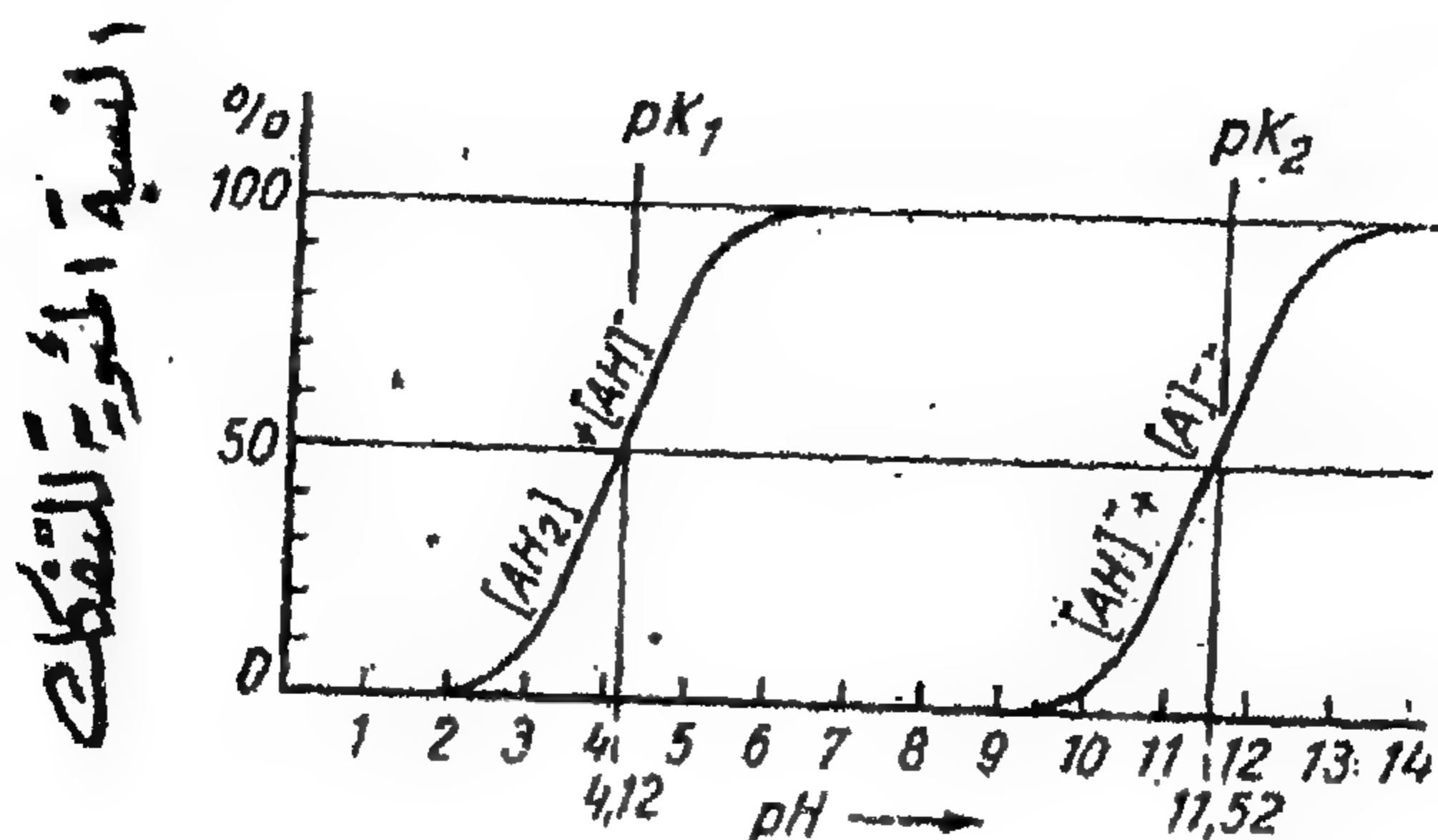


شكل 1-15 الايزومرات الفراغية لحمض الاسكوربيك

3-6-4-1 الخواص الفيزيائية الكيميائية لفيتامين C

فيتامين C حامض قوي نسبياً ($pK_1 = 4.1$ ، $pK_2 = 11.5$) في درجة حرارة 25°C وتعزى هذه الخاصية إلى وجود مجموعة OH الأينولية الحامضية على C_3 التي تزداد حامضيتها بوجود كاربونيل اللاكتون المجاورة C_1 (انظر تركيب اسكوربات الصوديوم).

يمتلك محلول 2% لحامض الإسكوربيك رقماً هيدروجينياً 2.8 في الماء وتعتمد نسبة التآين على الرقم الهيدروجيني (شكل 1-16).



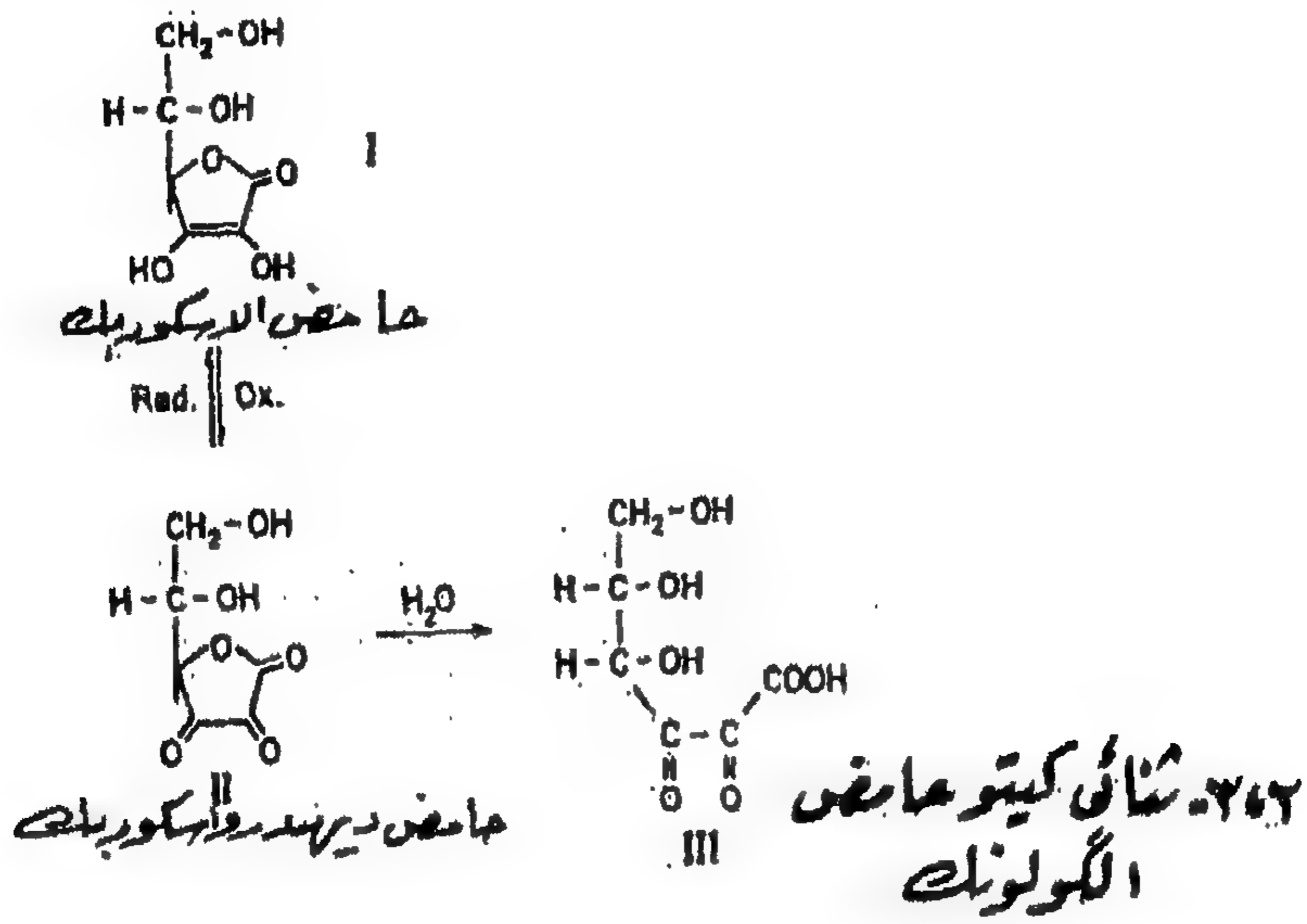
شكل 1-16 تفكك حامض الاسكوربيك وعلاقته بالرقم الهيدروجيني (معبرا عنه كنسبة مئوية). ثابتا التفكك في الماء: $4.1 = pK_1$ ، $11.5 = pK_2$.

يظهر حامض الإسكوربيك امتصاصا قويا مختارا في المنطقة فوق البنفسجية ويختلف الطول الموجي لقمة الامتصاص مع الرقم الهيدروجيني للمحلول فهو 244 نانوميتر في $pH = 266.2$ نانوميتر في $pH = 6-10$ بينما يكون 294 نانوميتر في pH أعلى من 10.

إن من أهم خواص فيتامين C سهولة أكسدته فهو يمتلك قوة اختزال عالية ولقد بنيت عدة طرق لتقديره على هذه الخواص. وتعزى هذه الخواص إلى مجاميع Enediol للجزئية. عند الأكسدة، يفقد فيتامين C ذرتي هيدروجين ويتحول إلى حامض Dehydroascorbic (شكل 1-17، II) الذي يمتلك أيضا فعالية مضادة للأسقربوط Anti-scorbutic إلا أن هذا الحامض نتيجة لعدم ثبات حلقة اللاكتون في المحاليل المتعادلة أو القاعدية يتأكسد إلى نواتج غير فعالة ويتخلل العملية تكوين حامض Diketogulonic-II.3.

إن الأكسدة إلى حامض Dehydroascorbic عكسية في الزجاج In vitro وفي الحي In vivo. تستخدم هذه الخاصية في كيمياء الأغذية لتعيين تركيز فيتامين C الكلي.

ونظرا لإمكانية تحرير واكتساب الهيدروجين بسهولة ، يستطيع حامض الإسكوريك وحامض Dehydroascorbic تكوين نظام أكسدة مرجع Redox system في الكائن الحي (لنقل الهيدروجين) ويخدم وظائف حيوية مهمة أيضاً.



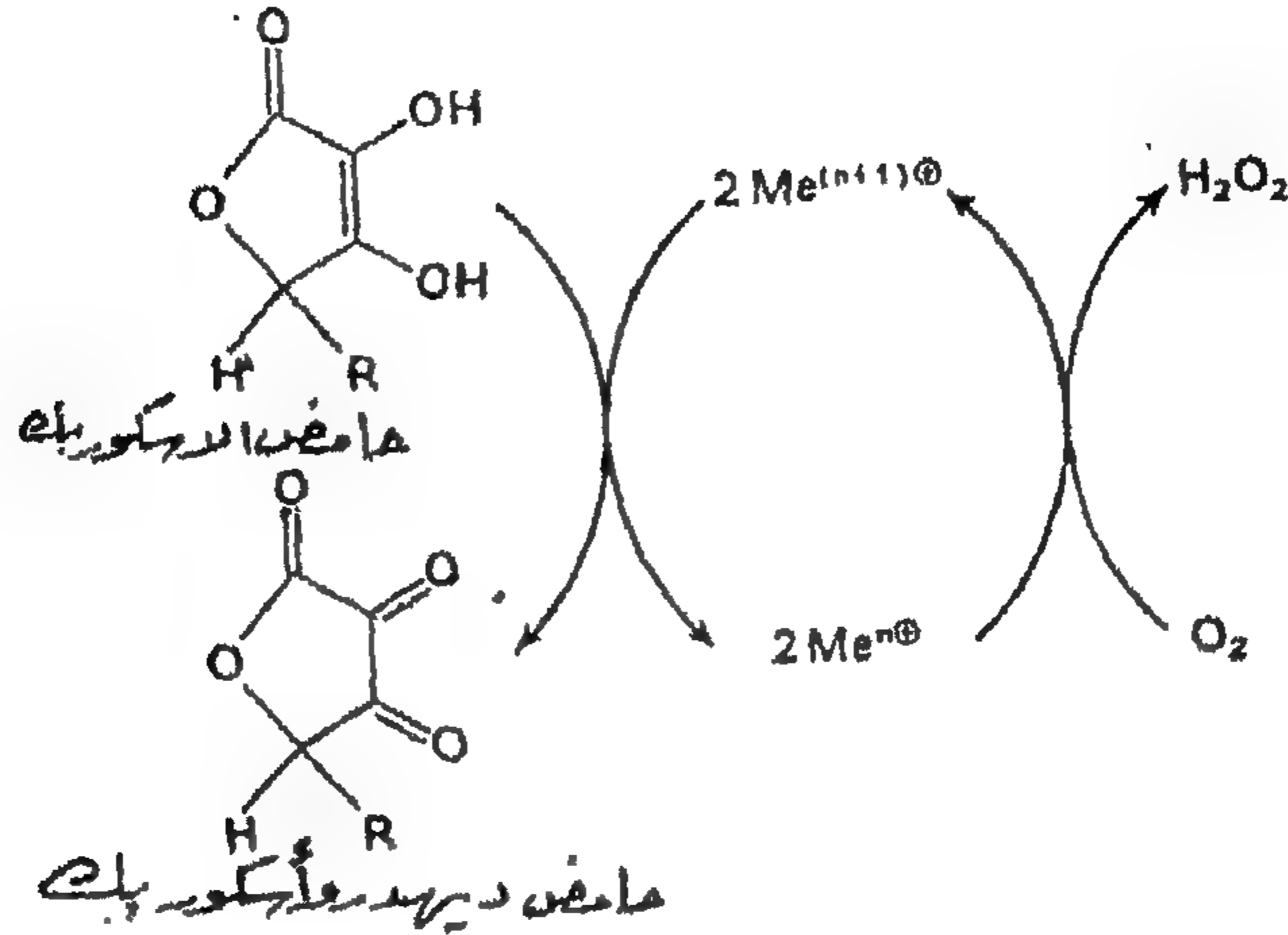
(1- 17) أكسدة حامض الأسكوريك

1-4-6-4 ثبات فيتامين C

إن خواص محلول حامض الاسكوريك في الماء (وكمثال حساسيته للأوكسجين والميل للأكسدة الذاتية والأكسدة الأنزيمية) تعتمد على الرقم الهيدروجيني للمحلول وبالتالي على نوع الأيونات الموجودة.

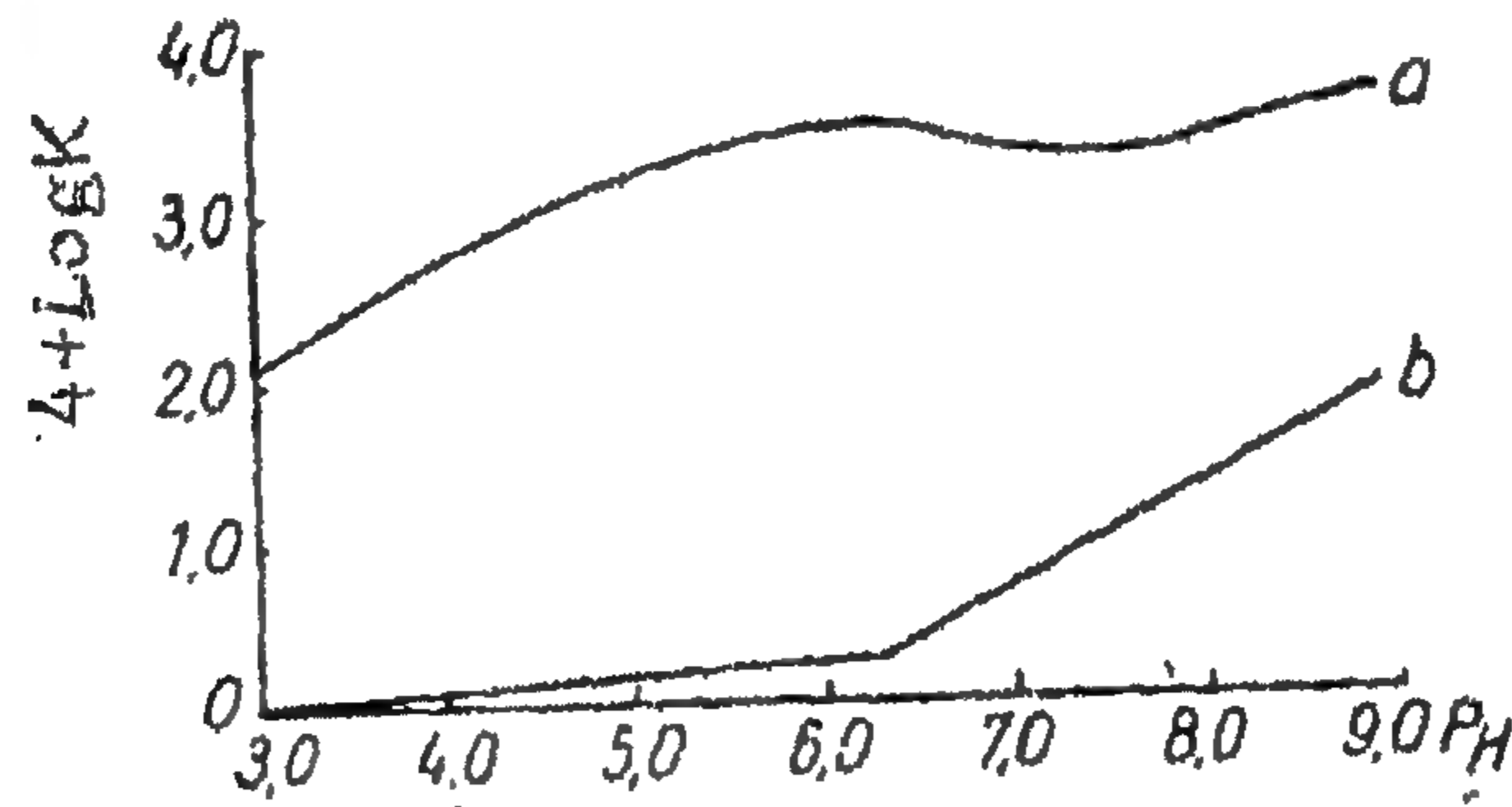
يكون فيتامين C ثابتا جدا في المحاليل الحامضية القوية عند غياب الأوكسجين وحتى بوجوده (الهواء) تكون محاليل فيتامين C النقية ثابتة وقليلة الحساسية للأكسدة. إلا أن المحيط المتعادل أو القاعدي أو وجود كميات ضئيلة من أيونات المعادن الثقيلة (كالنحاس والحديد) تؤدي إلى زيادة كبيرة في سرعة تفكك الحامض بوجود الأوكسجين وتكون أيونات النحاس CU^{2+} فعالة حتى

في تراكيزها الضئيلة إذ أن أكسدة حامض الإسكوريك تؤدي إلى تحول $Cu^{+} \rightleftharpoons Cu^{2+}$ وتعاد أكسدة أيونات النحاسوز مرة أخرى بالأوكسجين ويمكن تمثيل هذه العملية كالآتي:



(شكل 1-18).

ويصورة عامة تتناسب سرعة الأكسدة الذاتية لحامض الإسكوريك والأكسدة المحفزة بأيونات النحاس تناسباً طردياً مع التفكك Dissociation

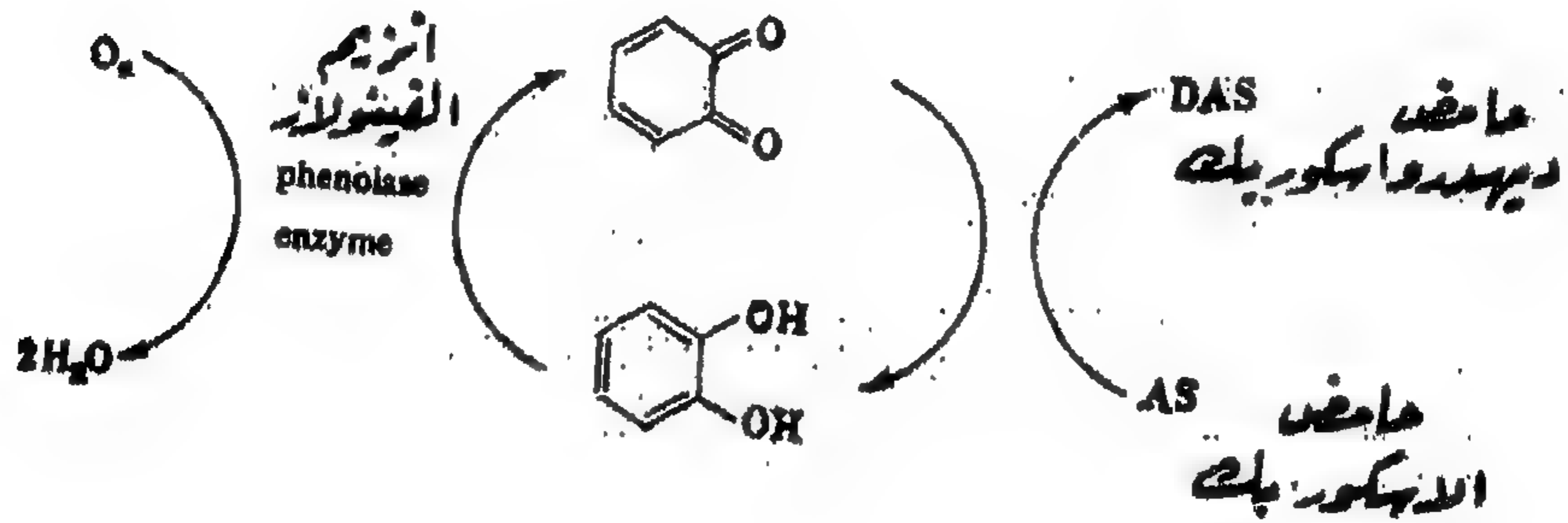


شكل 1-18 التغيرات في سرعة أكسدة حامض الإسكوريك مع تركيز أيونات الهيدروجين بوجود a وعدم وجود b أيونات النحاس. تمثل K ثابت السرعة للأكسدة.

وفي الأغذية يعاني فيتامين C إضافة إلى الأكسدة الذاتية والأكسدة

بالمحفزات الفلزية الثقيلة، أكسدة أنزيمية. ويعزى للأكسدة الأنزيمية فقدان فيتامين C خلال الحصاد والنقل وخزن الخضراوات الحاوية عليه مثل السبانخ والبازلاء والفاصوليا وكذلك خلال المعاملة المنزلية والصناعية للمواد الغذائية.

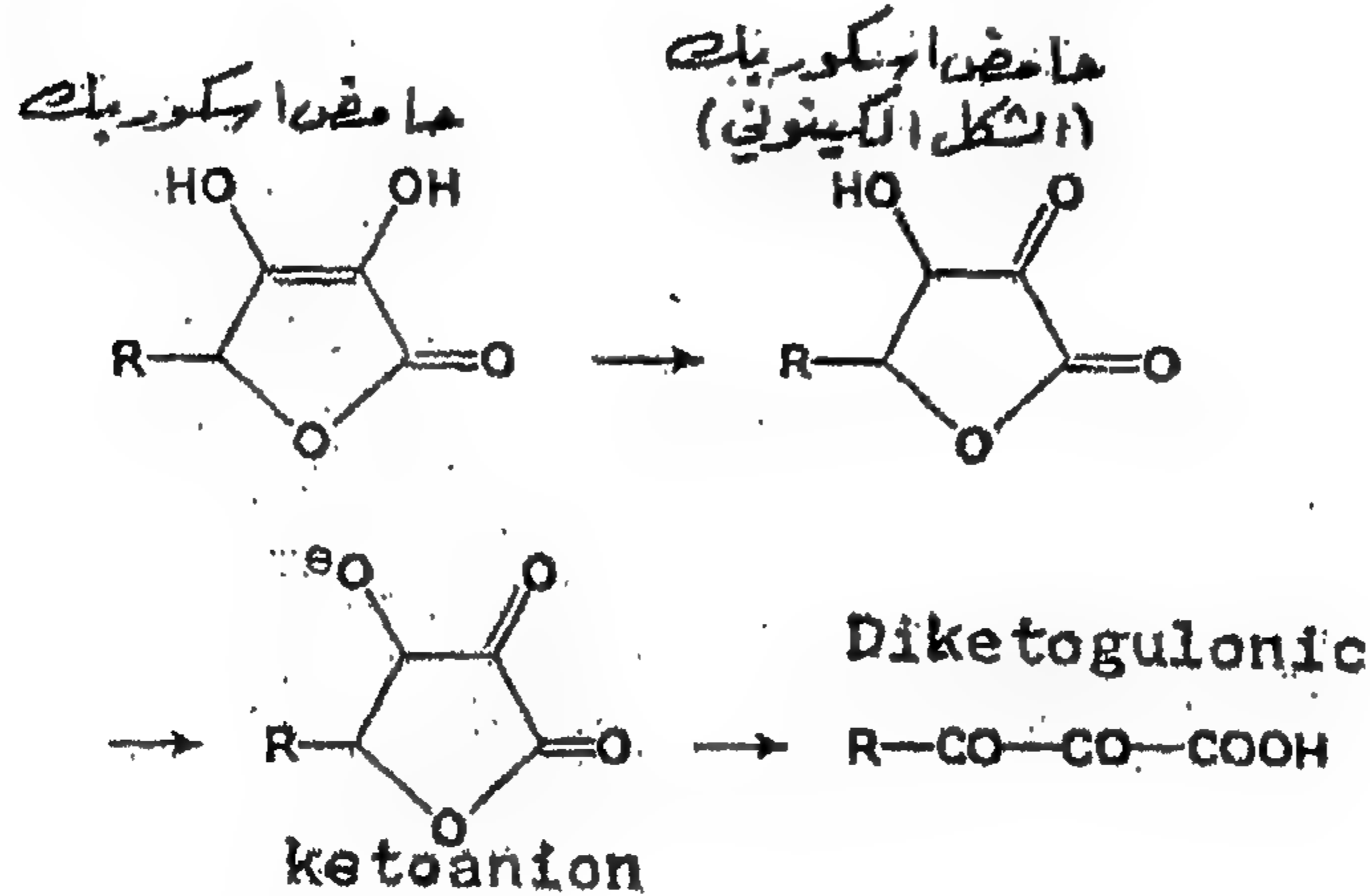
توجد سلسلة من أنزيمات الاوكسدة Oxidases المؤكسدة حامض الإسكوريك والتي تحوي نحاس Ascorbic acid oxidase phenolase أو حديد Cyto-Chrome oxidase, peroxidase, كتميم العامل Cofactor. يستطيع اوكسدة حامض الإسكوريك فقط أن يؤكسد حامضي الإسكوريك هوائيا بصورة مباشرة بينما تهاجم الأنزيمات الأخرى حامض الاسكوريك بصورة غير مباشرة. فمثلا تعمل المركبات polyphenols و Quercetin و Catechin وحامض Chlorogenic بوجود الإنزيم phenolase بمثابة عامل لنقل الكترونات بين الأنزيم وفيتامين C.



(1- 32)

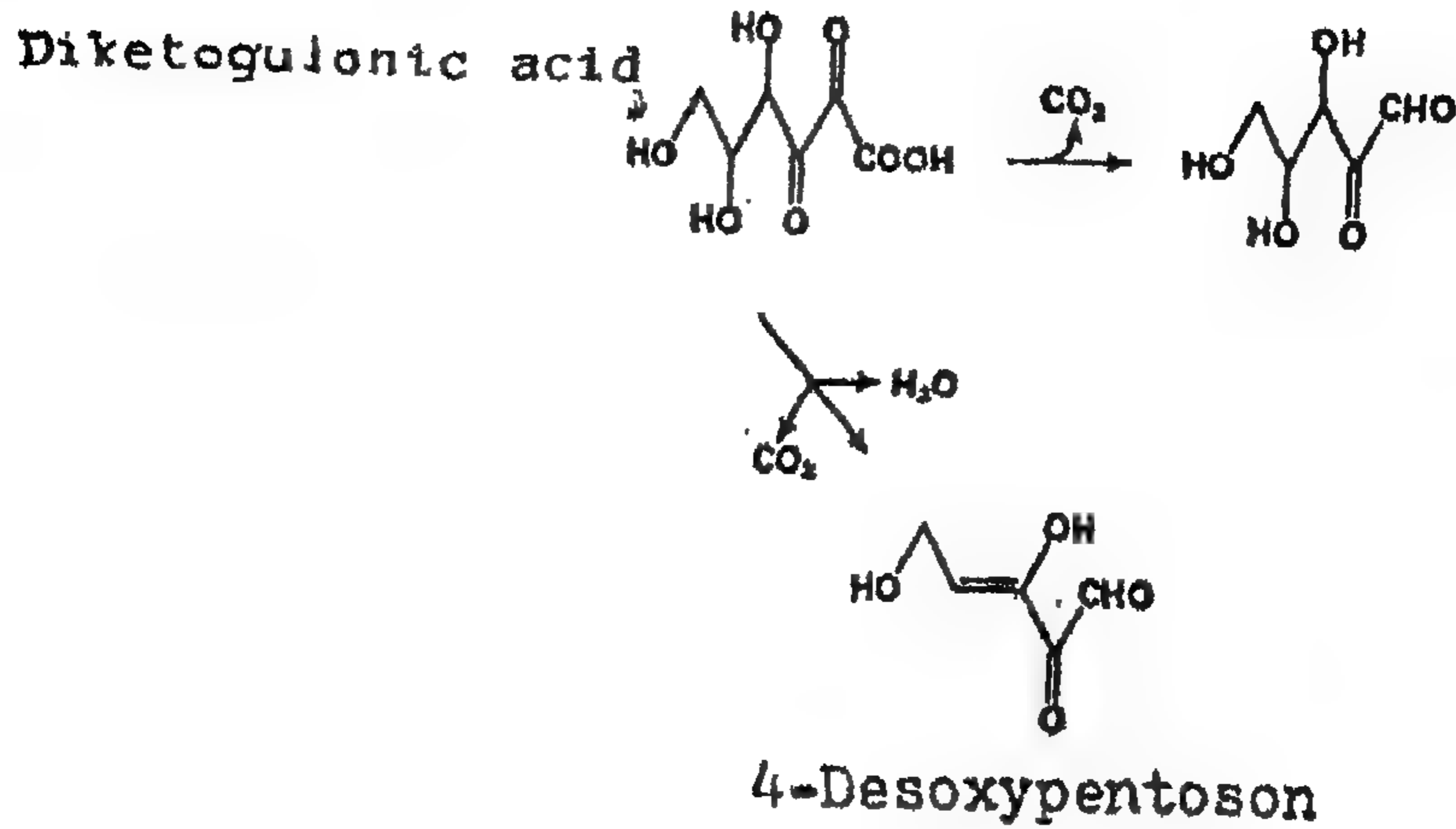
تتكرر هذه الحلقة من التفاعلات بوجود الأنظمة الأنزيمية السليمة في الخضراوات طالما كان هناك بقية لحامض الإسكوريك غير المؤكسد. ونظرا لعدم وجود الأنزيم polyphenol oxidase في الحيوانات، لا تحصل سلسلة التفاعلات المذكورة. وبطريقة مشابهة يتلف حامض الإسكوريك بوجود الأنزيم peroxidase من المهم جدا حماية فيتامين C من الأكسدة خلال خزن ومعاملة

الأغذية نظرا لأهميته الغذائية، ويمكن استثناء الأوكسجين بالخرن في الفراغ Vacuum أو بالمعاملة تحت غاز خامل. يكون التحلل اللاهوائي لحامض الإسكوريك بطيء جدا ويكون في أقصاه في $PH=4$ وفي أدناه في $PH=2$ ويحصل التفاعل عبر الصيغة الكيتونية لحامض الإسكوريك والـ Ketoanion الذي يتحول إلى Diketogulonic.



(33-1)

يتحول حامض Diketogulonic بعد ذلك إلى Xyloson مثل 4-
Desoxypen- toson الذي يتحول بالتالي إلى Ethylglyoxal.



(34-1)

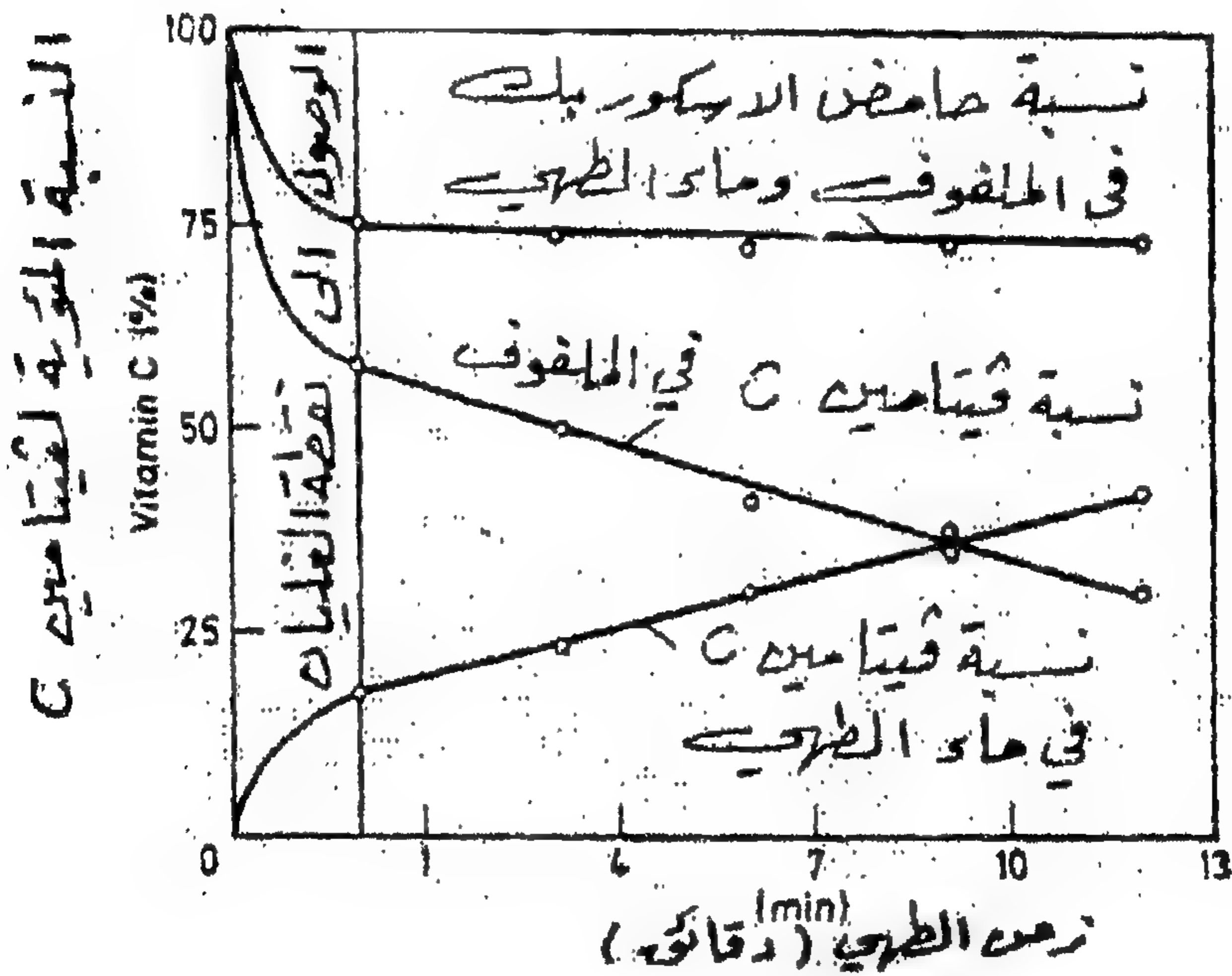
يجب نقل الخضراوات الحاوية على فيتامين C في درجات حرارة واطئة. تعيق بعض المواد الموجودة بصورة طبيعية في الأغذية أكسدة حامض الإسكوريك المحفزة بالفلزات الثقيلة (جدول 7-1).

جدول 7-1 النواتج الطبيعية الموجودة في المواد الغذائية والتي تعيق أكسدة حامض الإسكوريك المحفزة بالفلزات الثقيلة.

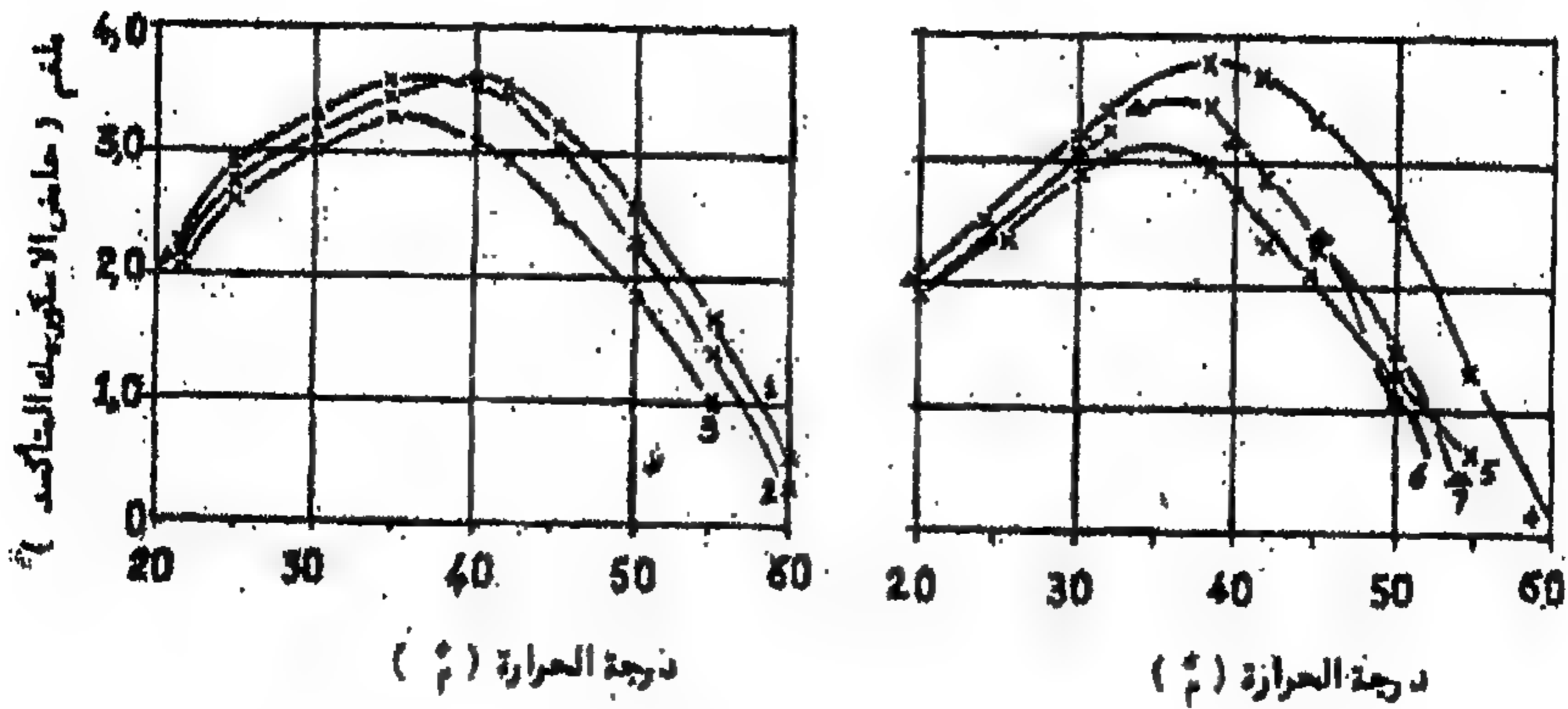
اسم المادة	أمثلة
أحماض أمينية	كلاليسين، كرياتين، كرتياتين، اسباراجين، حامض الكلوتامك، ستين
بروتينات	جميع البروتينات
أحماض هيدروكسيلية	حامض الستريك وحامض التارتريك
أحماض ثنائية الكربوكسل	حامض الاوكزالك
بكتينات، تانينات	Anthocyanins, Quercitol
Flavenoids و	Catechins و

ويجب أن لا يخفى على القارئ بأن البروتينات والسكريات والبكتينات تثبت فيتامين C في المحلول بطريقة فيزيائية بحتة وذلك بتقليص سرعة انتشار الأوكسجين إضافة إلى تكوين جسور هيدروجينية بين جزيئة الفيتامين ومجاميع $-OH$ و $>NH$ و CO و $COOH$ للبروتينات والسكريات والبكتينات.

ويمكن منع التلف الأنزيمي لفيتامين C في الأغذية بتثبيت الأنزيمات المؤكسدة بالحرارة وكمثال بالسق ومن جهة أخرى تؤثر درجة الحرارة وفترة المعاملة في القيمة الغذائية لفيتامين C في الأغذية نتيجة للأكسدة الذاتية والأكسدة المحفزة بالفلزات الثقيلة كما في الشكلين (19-1) و (20-1):



شكل 19-1 فقدان حامض الاسكوربيك عند طهو اللهاثة (الملفوف)

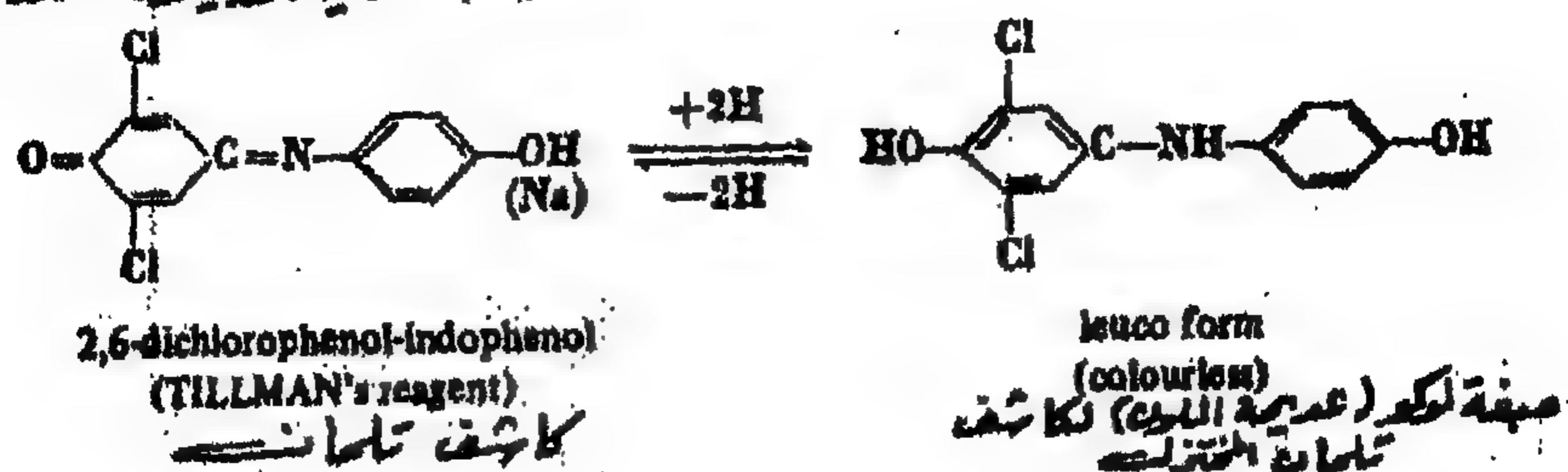


شكل 20-1 يمثل العلاقة بين نشاط أنزيم الاسكوربينيز ascorbinase من مصادر مختلفة ودرجة الحرارة 1- القرع 2- القرنبيط 3- الكرنب 4- اجنة البقوليات 5- الخيار (I) 7- الجزر الاصفر.

1-4-5-6-7 تعيين فيتامين C

تستخدم الخاصية الاختزالية القوية للفيتامين اساساً لجميع طرق تعيينه تقريباً. يمكن تعيين فيتامين C باستخدام عامل مؤكسد وكمثال محلول اليود، أو محلول صبغة الميثيلين الزرقاء Methylene blue أو محلول الصبغة 2.6-Dichlorophenol indophenol والمسمى كاشف تلمان Tillmans reagent. إن الصبغة الأخيرة مهمة ذلك لإمكانية جعلها متخصصة للفيتامين. تكون الصبغة حمراء في المحاليل الحامضية وزرقاء في المحاليل المتعادلة أو القاعدية وعديمة اللون بصيغتها المختزلة.

- ٦٤٦ - ثنائي كلورفينول - انثروينون



(35-1)

بالنظر لحساسية فيتامين C تجاه الأوكسجين، يجب استخلاصه من المواد الطبيعية في محيط حامضي باستعمال حامض الميتافسفوريك أو الأوكزالك لتثبيت المحلول. وفي بعض الحالات يفضل إزالة المواد التي تتداخل وعملية تعيين الفيتامين وكمثال المواد الملونة والعوامل المختزلة وعوامل الدباغة أو البيبتيد كلوتاثايون Glutathione ويفضل استخدام الكروماتوكرافي الورقي لهذه الغاية، كما يمكن استخدام البولاروكرافي لتعيين فيتامين C.

يمكن تعيين فيتامين C بطريقة خصوصية جدا وذلك باستخدام الأنزيم أوكسداز حامض الإسكوريك Ascorbic acid oxidase المستخلص من الخيار أو القرع.

إن أكثر الطرق خصوصية هي الطريقة الحيوية باستخدام الحيوانات واستخدام اختبار اتقاء prophylactic وعلاج مرض الإسقربوط ولكنها تستغرق وقتا طويلا.

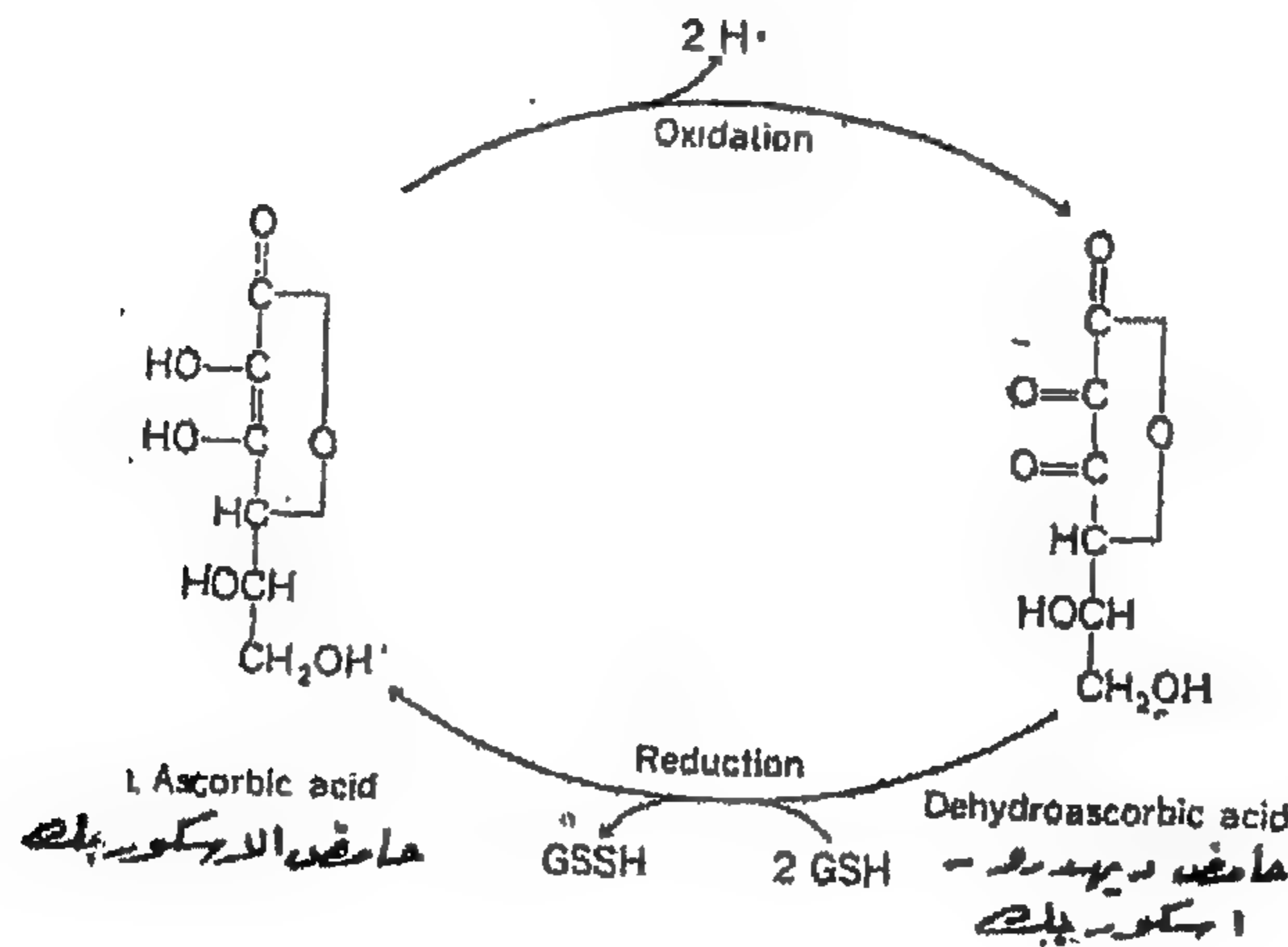
1-4-6-6 الوظيفة الكيميائية الحياتية

يؤدي نقص فيتامين C في غذاء الإنسان إلى مرض الإسقربوط المتميز بالوذمة edema والنزف تحت الجلد وفقر الدم وتغيرات مرضية في الأسنان واللثة

ولقد عرف المرض قديماً وخصوصاً لدى البحارة الذين تستغرق رحلاتهم زمناً طويلاً بحيث لا يحتوي غذاؤهم على الفواكه والخضراوات الطازجة.

إن من أهم ميزات مرض الإسقربوط هو التغير في الأنسجة الرابطة وتصبح عديدات السكريد المخاطية Mucopoly saccharides غير طبيعية في خصائصها وتحدث تغيرات ملحوظة في ألياف الكولاجين. ويعتقد بأن الحامض الاسكوربيك دور مهم في تحول البرولين إلى الهيدروكسي برولين الذي يوجد بتركيز عالية نسبياً في الكولاجين.

مما لا شك فيه، العلاقة الوثيقة بين الفعالية الكيميائية الحيوية لفيتامين C وخاصيته بوصفه عاملاً مختزلاً جيداً. يمكن اختزال الصيغة المؤكسدة لحامض الإسكوربيك Dehydroascorbic إلى حامض الاسكوربيك بمواد مختزلة مختلفة وكمثال الببتيد كلوتاثيون Glutathione. وتشكل صيغتا حامض الإسكوربيك نظام أكسدة واختزال عكوس (شكل 1-21).



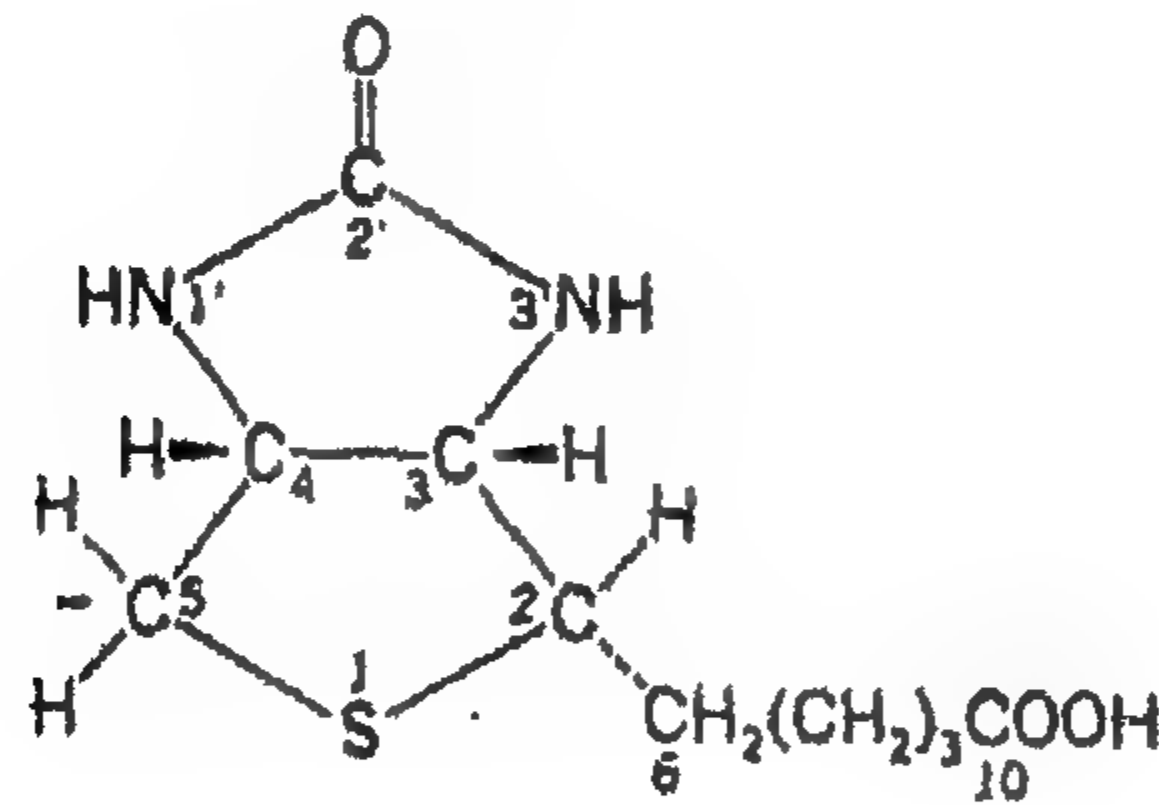
(36 - 1)

شكل 1-21 نظام الأكسدة والاختزال (الأكسدة المراجعة) العكوس لحامض الإسكوربيك بوجود الكلوتاثيون.

كما ويعمل حامض الإسكوريك عاملاً مختزلاً لتحويل البروتين إلى الهيدروكسي بروتين عند تكوين الكولاجين، يساهم أيضاً عاملاً مختزلاً في هيدروكسلة الحامض بارا- هيدروكسي فثيل بايروفك P-Hydroxyphenyl pyruvic إلى هو موجنتسك Homogentisic في الكبد وفي تحول الدوبامين إلى هورمون النوايينفرين والذي يحصل في غدة الكظر Adrenal وهكذا يتضح دور فيتامين C في تفاعلات الهيدروكسلة في الخلية.

7-4-1 البيوتين Biotin

في عام 1936 تم عزل عامل نمو للخميرة- بلوري الشكل - من صفار البيض وسمي Biotin وبعد بضع سنوات اكتشف عامل جوهري لنمو وتنفس الريزوبيوم Rizobium وسمي Coenzyme R واكتشف بعدئذ بأن العاملين متماثلان.



Biotin

ولقد عرف سابقاً، بأن وجود كميات كبيرة من بياض البيض النيء في الأغذية التجريبية يؤدي إلى أعراض سمية في الجرذان تتميز بالتهاب الجلد وفقدان الشعر وعدم التناسق العضلي Muscular incoordination وأن الخميرة والكبد وبعض المواد الغذائية الأخرى تحتوي مواد تحمي الجرذان من الضرر الناتج عن البياض النيء، وفي عام 1940 أصبح جلياً بأن البيوتين وعامل السمية الموجود في بياض البيض متماثلان.

1-7-4-1 البيوتين وتغذية الإنسان

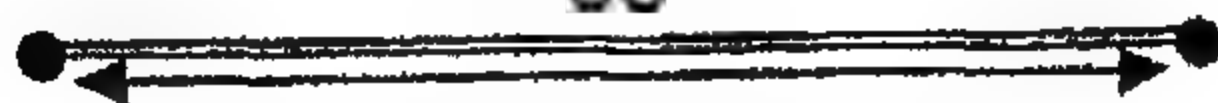
ومن أهم المصادر الغذائية للبيوتين: الكبد والحليب واللحوم والخضراوات، ويكمل النبيت المعوي Intestinal flora محتوى الفيتامين في الأغذية إلا أن تخليق الفيتامين من قبل النبيت المعوي يعتمد على تكوين الغذاء المتناول.

يقدر حاجة الإنسان للبيوتين 150-300 ميكروغرام يوميا. ويزود النبيت المعوي كل ما يحتاجه الإنسان منه تقريبا وعند قلة هذا النبيت في الأمعاء لسبب من الأسباب وكمثال وجود بعض الأمراض المعوية والعلاج بالمضادات الحيوية، يحتاج الإنسان إلى البيوتين في غذائه.

إذا وجدت كميات كبيرة من بياض البيض النيء في الغذاء، فإن بروتين الافدين Avidin الموجود فيه يرتبط بالبيوتين والبروتينات الحاوية عليه و٩٩ المعقد الناتج Biotin-Avidin مقاوما لأنزيمات التحلل المائي (الحلقة) للسبيل المعدي المعري وبذلك لا يمتص البيوتين ويصاب الإنسان بنقص فيه.

1-7-4-2 التخليق الحيوي للبيوتين

تم دراسة تخليق البيوتين في مختلف الأعفان والبكتريا. يوضح الشكل (1-22) المسلك المقترح نتيجة للدراسات على البكتريا E.Coli.



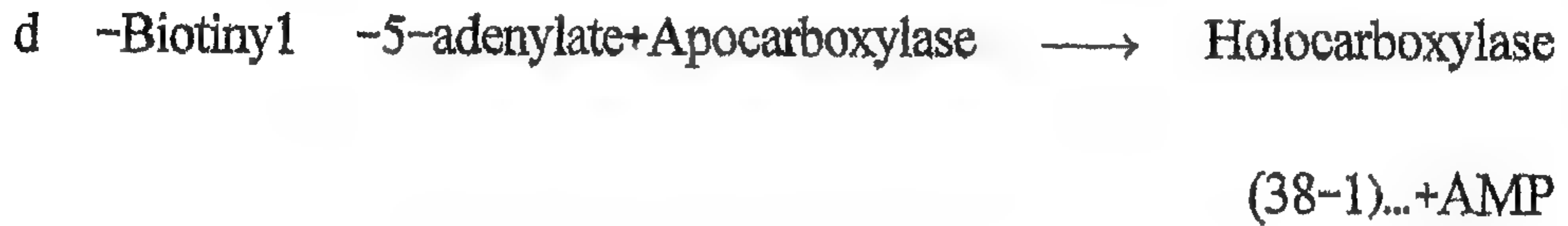
إن مشتق التميم (Azelaoyl CoA) يعطي Acetyl CoA و pimeloyl CoA بالمسلك الإعتيادي لتفاعلات الأكسدة بيتا B. oxidation يستطيع كلا مشتقي حامض البلاركونك (شكل 1-22) مساندة نمو بعض طوافر Mutants البكتريا E.Coli التي لا تستطيع تخليق البيوتن. وأن الأنزيم الناقل للمجموعة

الأمينية Aminotransferase في البكتريا E.Coli ، يستخدم بصورة متميزة L-Adenosyl methionine 8 بوصفه واحدا لمجموعة الامينو عند تكوين الحامض 7.8-Diamino pelargonic يتفكك الناتج وهو الحامض 2-oxo 4-methyl thioadenosine. 2- oxo-3- butenoic 8-Adenosyl إلى حامض 5-methyl thioadenosine.

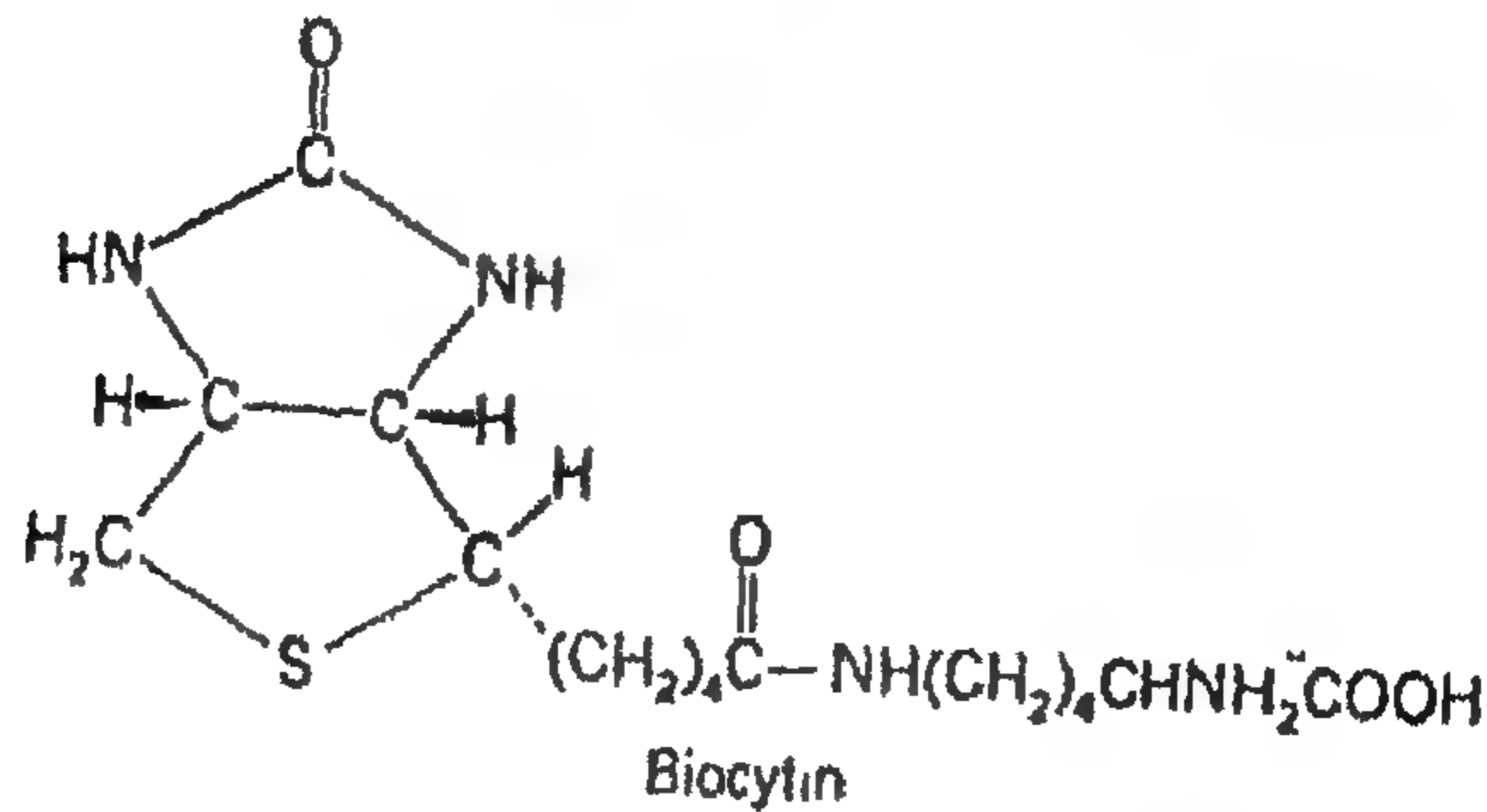
لا يعرف مصدر ذرة الكبريت ويخدم المسالك بأكمله بوجود 5-Biotinyl adenylate في الوسط.

يكون البيوتين في الأنزيمات الحاوية عليه، مرتبطا تساهميا بأصرة اميدية إلى مجموعة الامينو ايبسلون (E) لمثالة لايسين.

يشتمل هذا الارتباط على تنشيط البيوتين بوجود المركب ATP ويعقب ذلك اقترانه بالبروتين بوجود الأنزيم Holocarboxylase synthetase



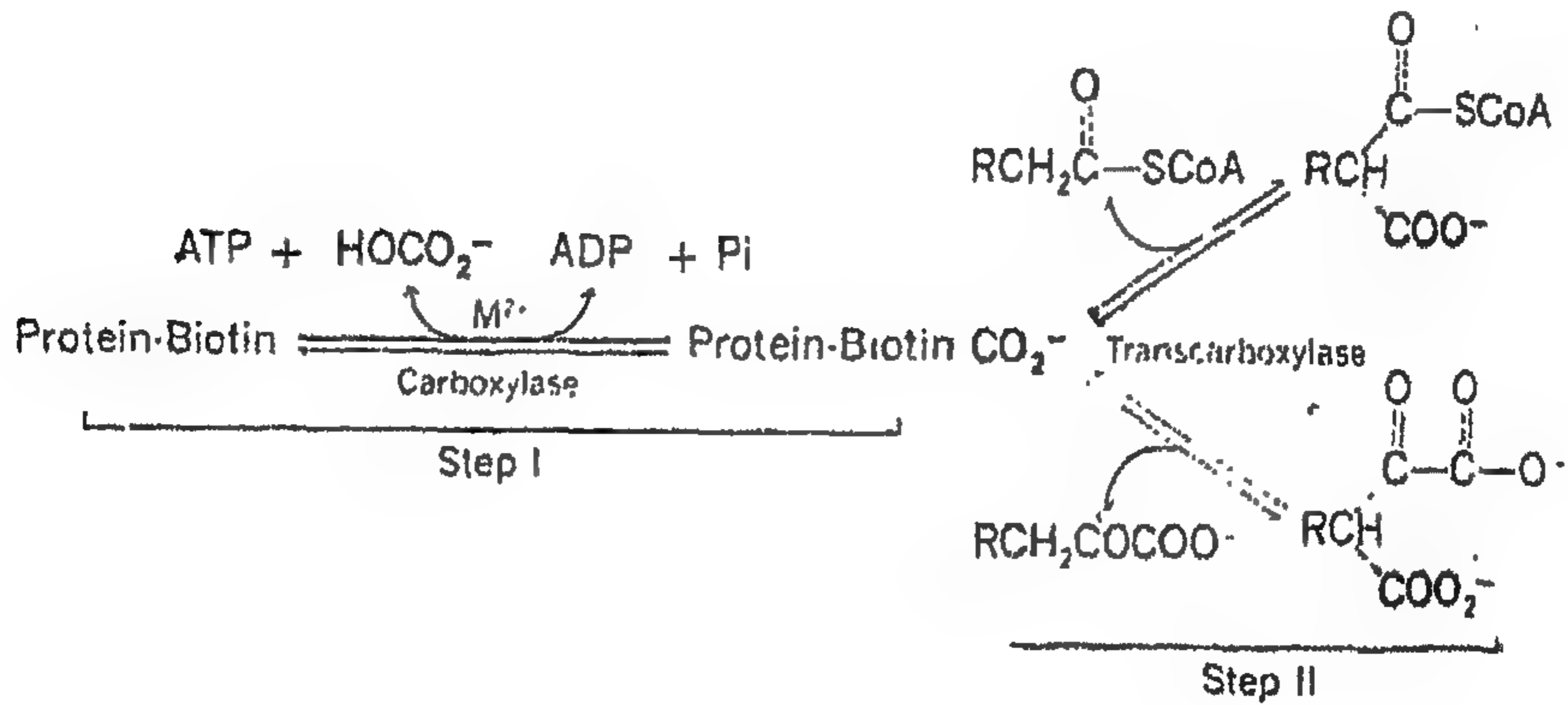
ولقد أمكن عزل المركب Biocytin E- N- biotinyl -L- lysine ناتجا للتحلل المائي للبروتينات الحاوية على البيوتين:



1-4-7-3 الوظيفة الكيميائية الحياتية

يشكل البيوتين المجموعة الضميمة prosthetic group لأنواع الأنزيمات المحفزة لتثبيت ثاني أكسيد الكربون في آصرة تساهمية وكمثال الأنزيمات Acetyl (CoA / carboxylase و CoA/ Carboxylase و Propionyl Transcarboxylase (/Methylmalonyl pyruvate Carboxylase ولهذا فإن نقصه في الأنسجة يؤدي إلى انخفاض قدرتها على اندماج CO_2 في الاوكزالواستات وعلى تخليق الأحماض الدهنية.

يمكن تقسيم التفاعل الاجمالي للكربوكسلة- والمحفز بأنزيمات الكربوكسيلاز المعتمدة على البيوتين- إلى مرحلتين متميزتين، إذ تشمل تفاعلات الكربوكسلة على كربوكسلة البيوتين في البروتين الناقل لمجموعة الكربوكسيل Biotin Carboxylase ثم نقلها لاحقا إلى مركب مستلم بتحفيز أنزيم Transcarboxylase.



(39-1) ...

تتضمن المرحلة الأولى تكوين Carboxyl biotinyl enzyme تتضمن المرحلة الثانية نقل الكربوكسيل إلى ركيزة مستلمة مناسبة تبعاً لخصوصية الأنزيم Transcarboxylase ذي العلاقة. يمثل الأنزيم pyruvic carboxylase نموذجاً للأنزيمات المستخدمة للحوامض الفا- كيتو بمثابة مستلمات بينما يشكل الأنزيمان Acetyl CoA Carboxylase propionyl CoA Carboxylase مثالين لأنزيمات مستخدمة Acyl CoA بمثابة مستقبل.

تمت دراسة آلية تحول Acetyl CoA إلى Malonyl CoA بصورة مكثفة في البكتريا E.Coli وبينت النتائج التسلسل التالي للتفاعلات التي يساهم فيها ثلاثة بروتينات:

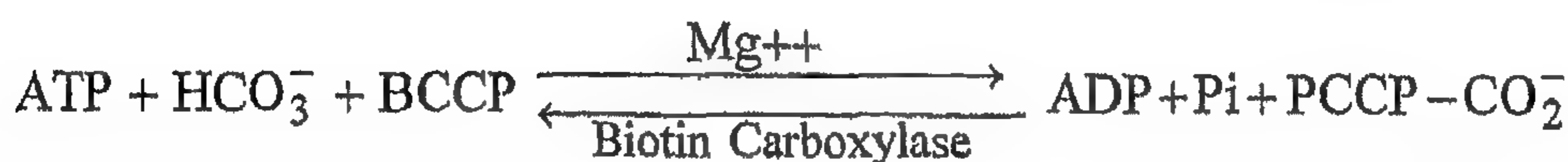
وهي

أ- Biotin carboxylase

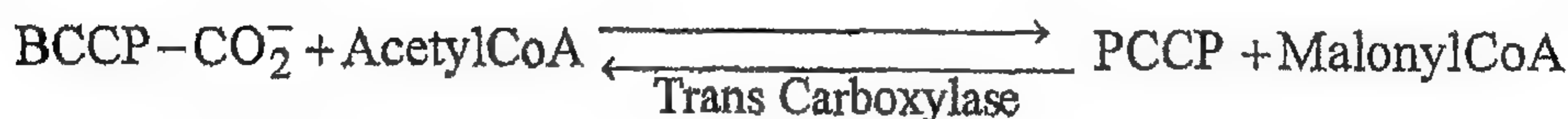
ب- Biotin carboxyl carrier protein (Bccp)

ج- Acetyl CoA. Malonyl CoA trans carboxylase

أ ب ... (40-1)



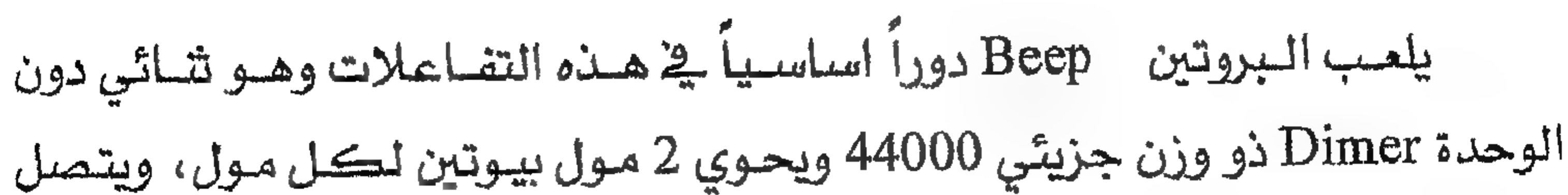
... (41-1)



ولقد وضعت الآلية الآتية لهذه التفاعلات (شكل 1-23)

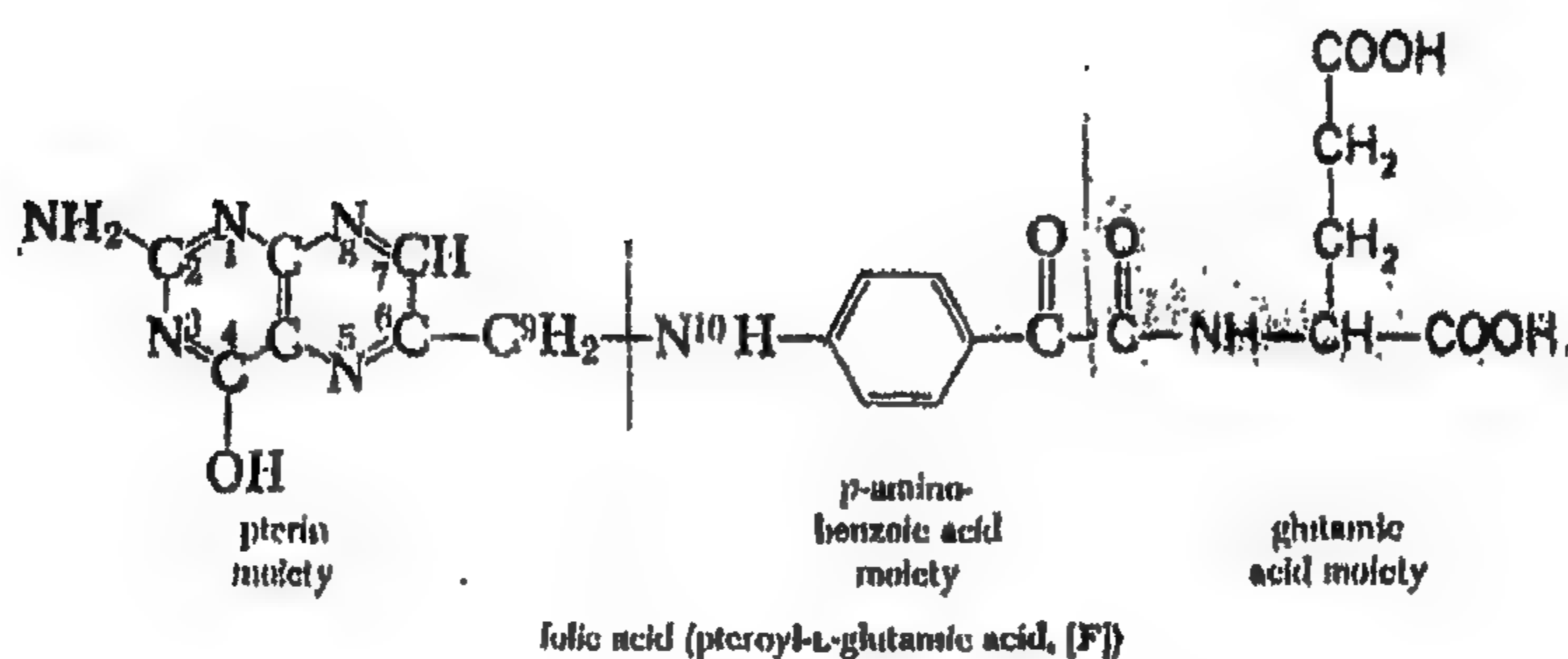
أ. كريكسلة البيوتين المرتبط بالأنزيم بوجود ATP. لاحظ دور ذرة النتروجين النيوكليوفيلية رقم 1 للبيوتين حيث ترتبط تساهمياً مع أيون الكربوكسيلات لتكوين N- Carboxybiotin

Carboxylated acyl (CoA) A



البيوتين بالسلسلة الببتيدية من خلال جسري لا يسيل Lysylbridges.
 الأنزيم Biotin Carboxylase ثنائي دون الوحدة ذو وزن جزيئي 98000
 وتكون دون الوجدتين متماثلتين والوزن الجزيئي 510000 لكل منهما أما الأنزيم
 Transcarboxylase فهو رباعي دون الوحدة Tetramer ذو وزن جزيئي 130000
 ويقدر الوزن الجزيئي لدون الوحدات 30000 و35000.

8-4-1 حامض الفولك pteroyl-L- glutamic acid



يتكون حامض الفولك من ثمانية

p- ثمانية بارا - امينوبينزوك -2 Amino 4- hydroxy -6-Methylpteridine
 Glutamic acid وثمانية كوتامك Aminobenzoic acid

توجد مجموعة مركبات حامض الفولك في جميع أنسجة الحيوانات
 والنباتات ولكن بتركيز ضئيلة جداً. يوجد تركيز عال لحمض الفولك 50-
 100 mg/100 gm في الخضراوات الورقية داكنة الخضرة وفي الخضراوات
 الخضراء الطرية وفي كبد وكي الحيوانات المستخدمة بوصفها غذاء بينما
 توجد كميات قليلة في لحم البقر والحبوب والجذور والنباتات والطماطة والجبن
 والحليب.

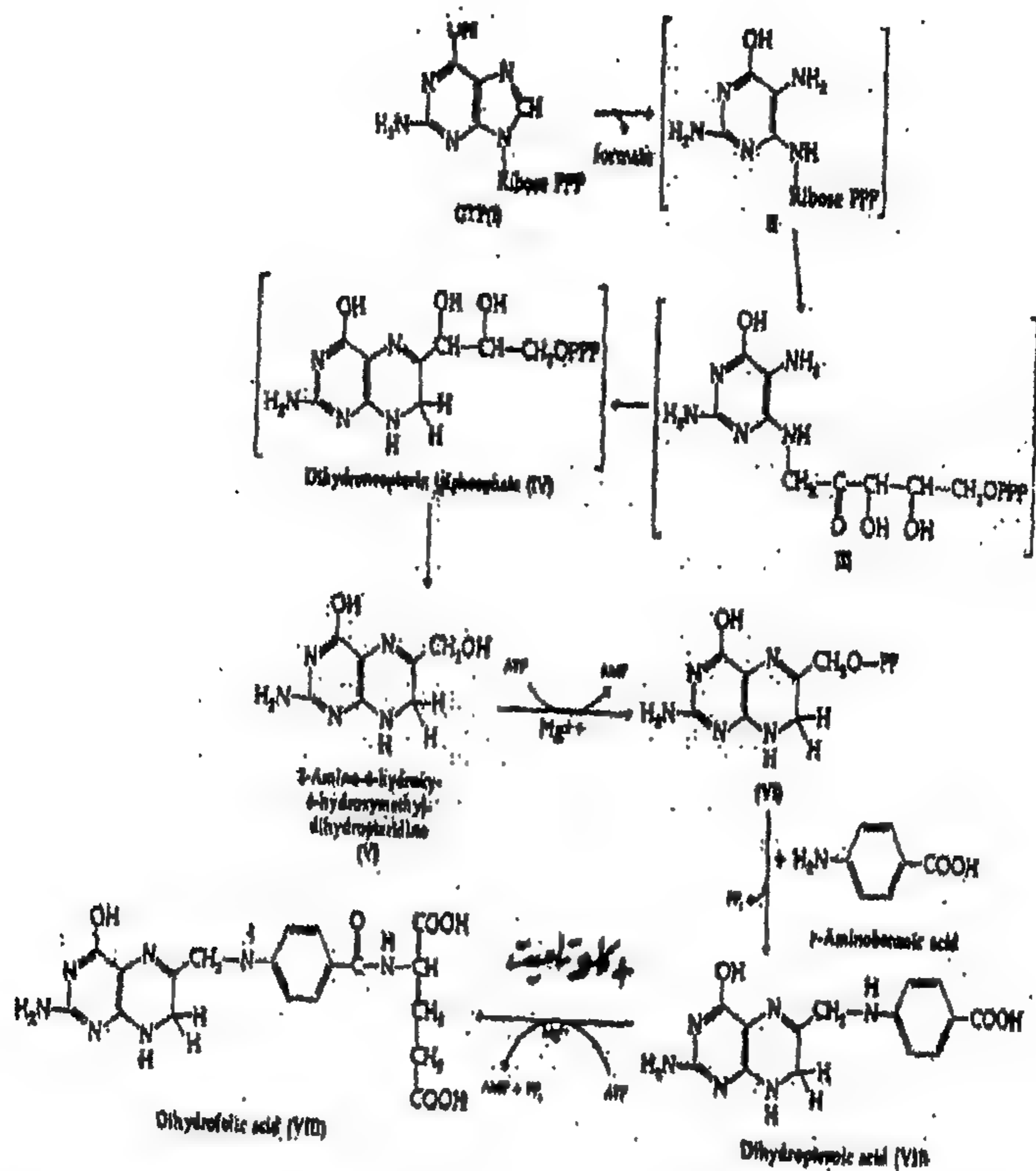
حامض الفولك قليل الذوبان في الماء البارد والكحول ويزداد ذوبانه في الماء
 الحار. يذوب حامض الفولك في الحوامض بسهولة لأنها تكون أملاحاً مع

مجموعة الأمينو فيه ويكون ثابتاً تجاه الحرارة سواء وجد في محيط متعادل أو حامضي أو قاعدي لذلك لا يفقد الفيتامين بالطبخ إلا أنه يتلف بالضوء. لقد استدل على أن فقدان هذا الفيتامين في الحليب يعود لعملية الأكسدة. توازي هذه العملية نكوص Dagradaion حامض الإسكوريك. وتؤدي إضافة حامض الإسكوريك إلى ثبات حامض الفولك.

1-8-4-1 التخليق الحيوي

يستخدم (I) Guanosinetriphosphat مباشرة لتخليق الـ pteridine كما في الشكل (1-24). يحفز أنزيم البكتريا E.Coli (الوزن الجزيئي 210000) فتح الحلقة وفقدان C-8 للبيورين بشكل فورمات وتكوين (17) triphosphate Dihydroneopterin

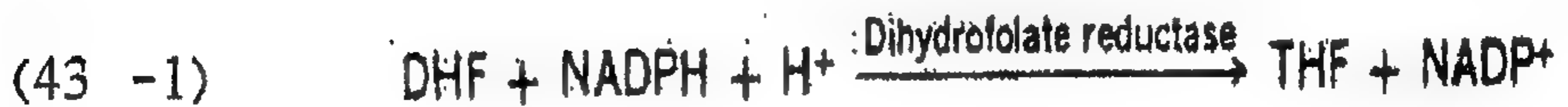
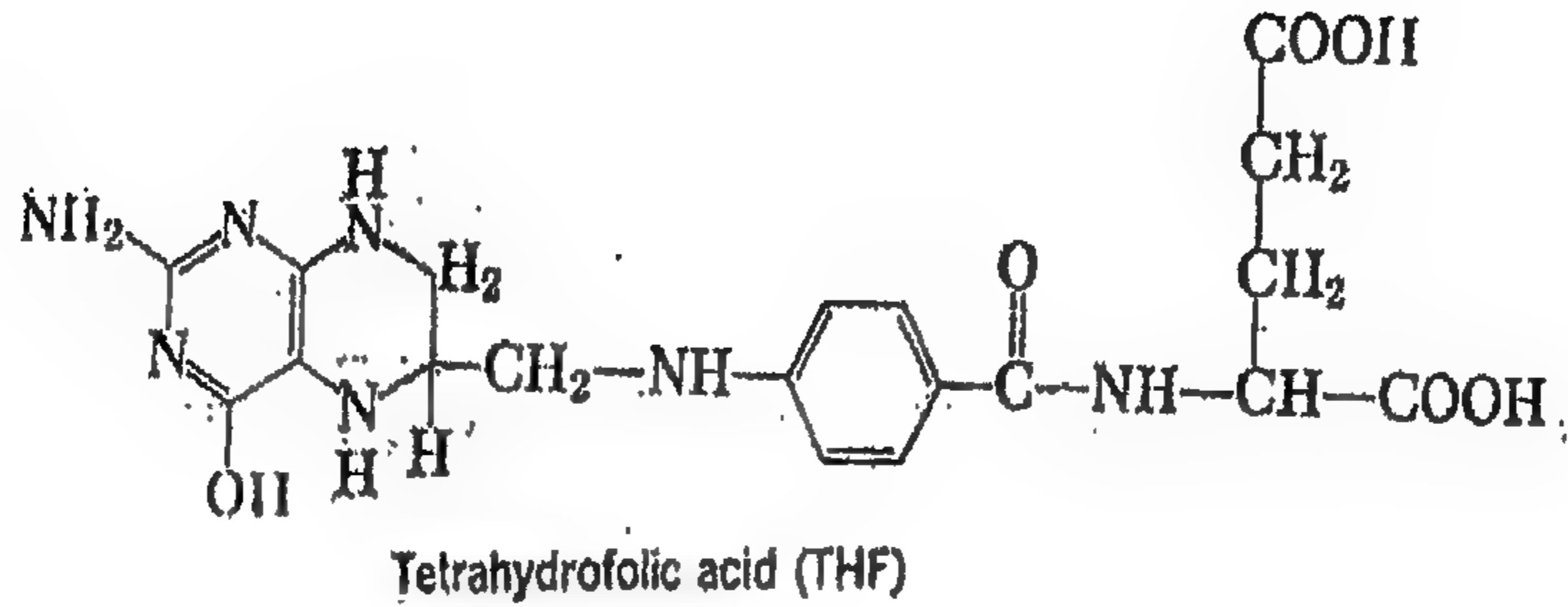
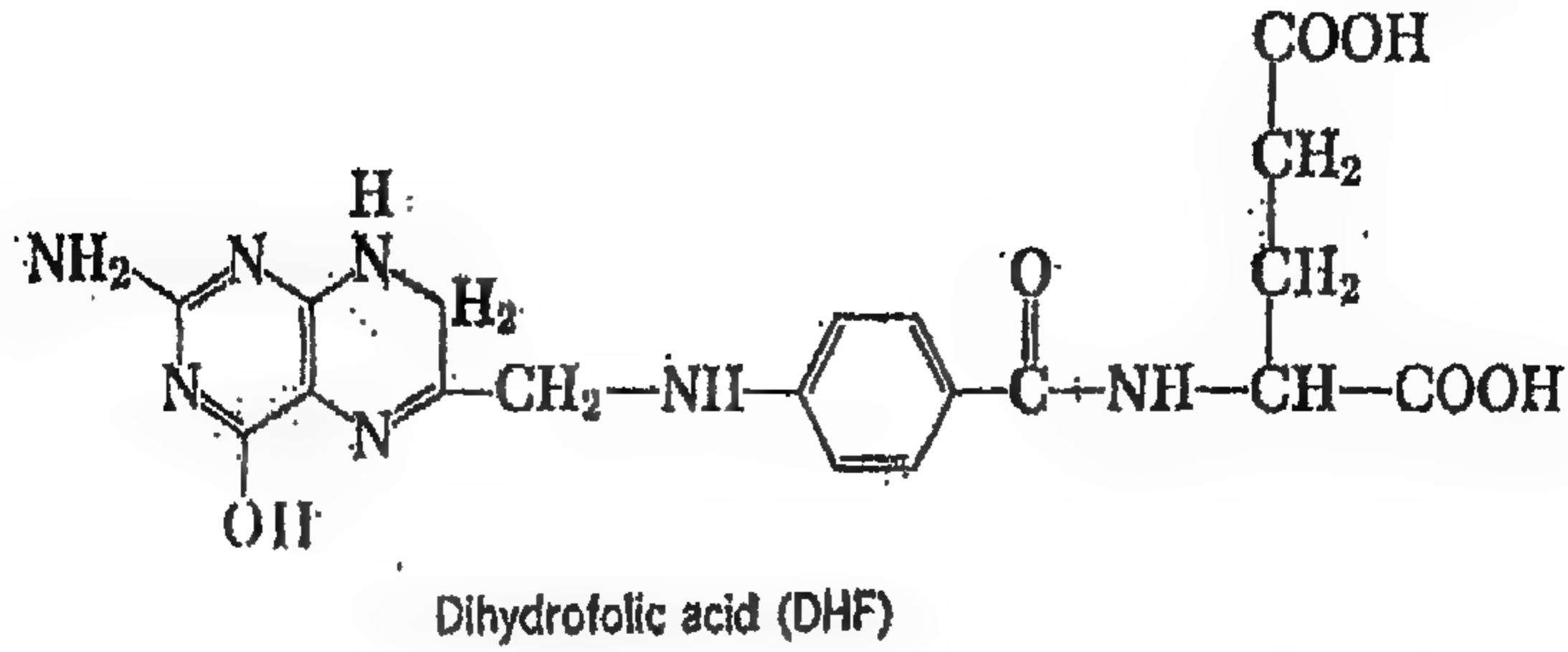
إن المركبين الوسيطيين المفترضين II و III لم يكن عزلها. يستطيع 2- Amino 4- Hydroxy-6 hydroxymethyl dihydropteridine (V) واستر البيروفوسفات (VI) أن يعمل بمثابة سلف لحامض Dihydropteroic (VII) تتنافس مركبات Sulfonamides مع حامض p-Aminobenzoic في تفاعل اتزان لتكوين (711). يتكون حامض p-Aminobenzoic - من الحامض Chorismic ويكون الكلوتامين مصدر مجموعة الأمينو فيه.



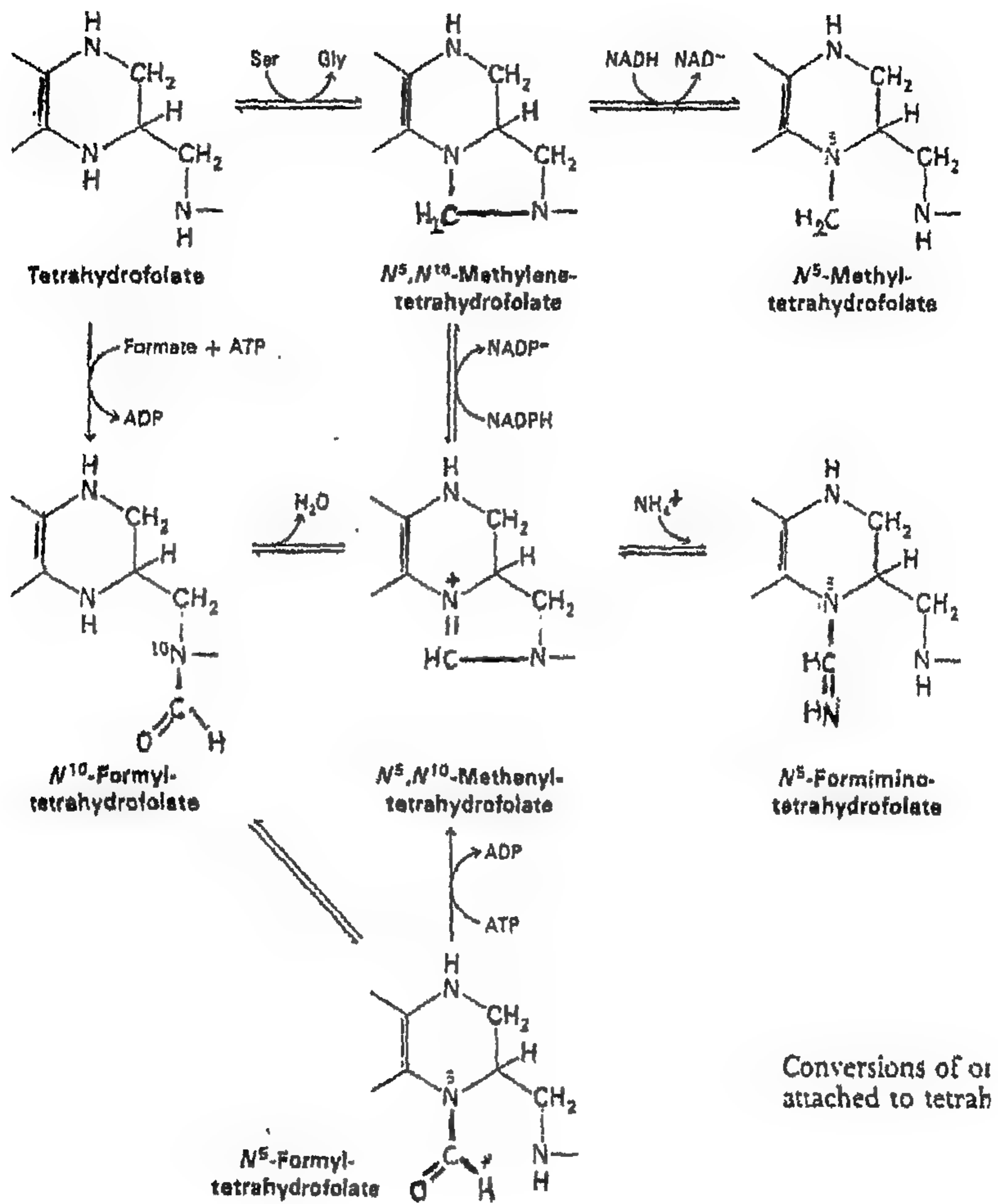
شكل 1-24 المخطط العام لتخليق حامض الفوليك. ترمز P إلى مجموعة الفوسفات وبذلك يشير PPP إلى ثلاثي الفوسفات و PP إلى ثنائي الفوسفات

1-4-8-2 الوظيفة الكيميائية الحياتية

على الرغم من أن الفيتامين هو حامض الفوليك إلا أن نواتج اختزاله تمثل صيغ التميم الأنزيمية الحقيقية يختزل الأنزيم I.Folate reductase حامض الفوليك إلى حامض ثنائي هيدروفوليك DHF، ويختزل هذا المركب إلى THF بواسطة الأنزيم Dihydrofolic reductase ويمثل NADPH العامل المختزل في كلا التفاعلين.

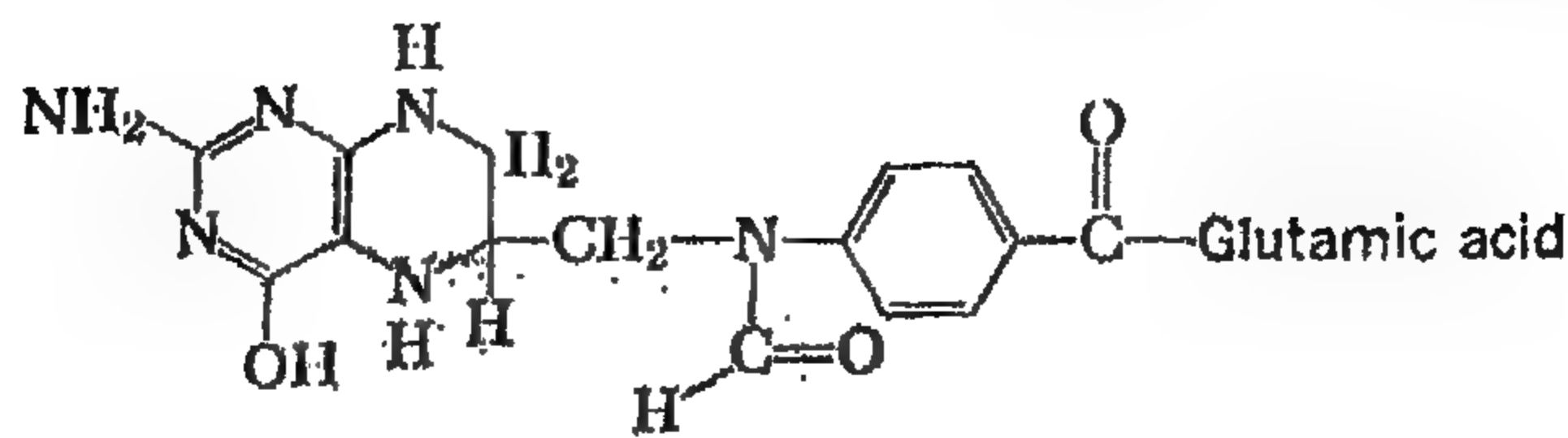


الوظيفة الأساسية لرباعي هيدرو حامض الفوليك THF نقل وحدة كاربون ميثيل (CH_3-) أو مثيلين ($\text{CHO}-$) أو فورميل ($-\text{CHO}$) أو مثيلين ($-\text{CH}=\text{}$) كما في الشكل (1-25) تستخدم الفورمات في تخليق البريميدينات والبيورينات والسريرن والكليسين أن خطوات عملية نقل الفورمات معقدة ولكنها تبتديء بتنشيط حامض الفورمك (معادلة 1-44).



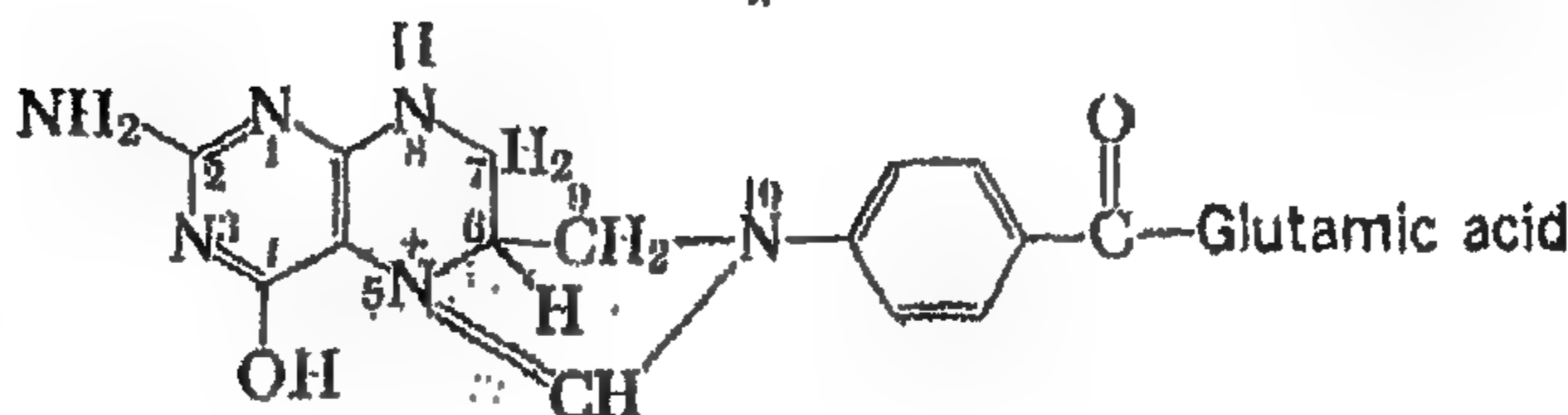
شكل 1-25 تحويلات الوحدات أحادية الكربون المرتبطة برياعي هيدروحامض الفوليك

يعاني N¹⁰-Formly THF إغلاق حلقي لتكوين N^{5,10}-methyl THF



N¹⁰-Formyl THF

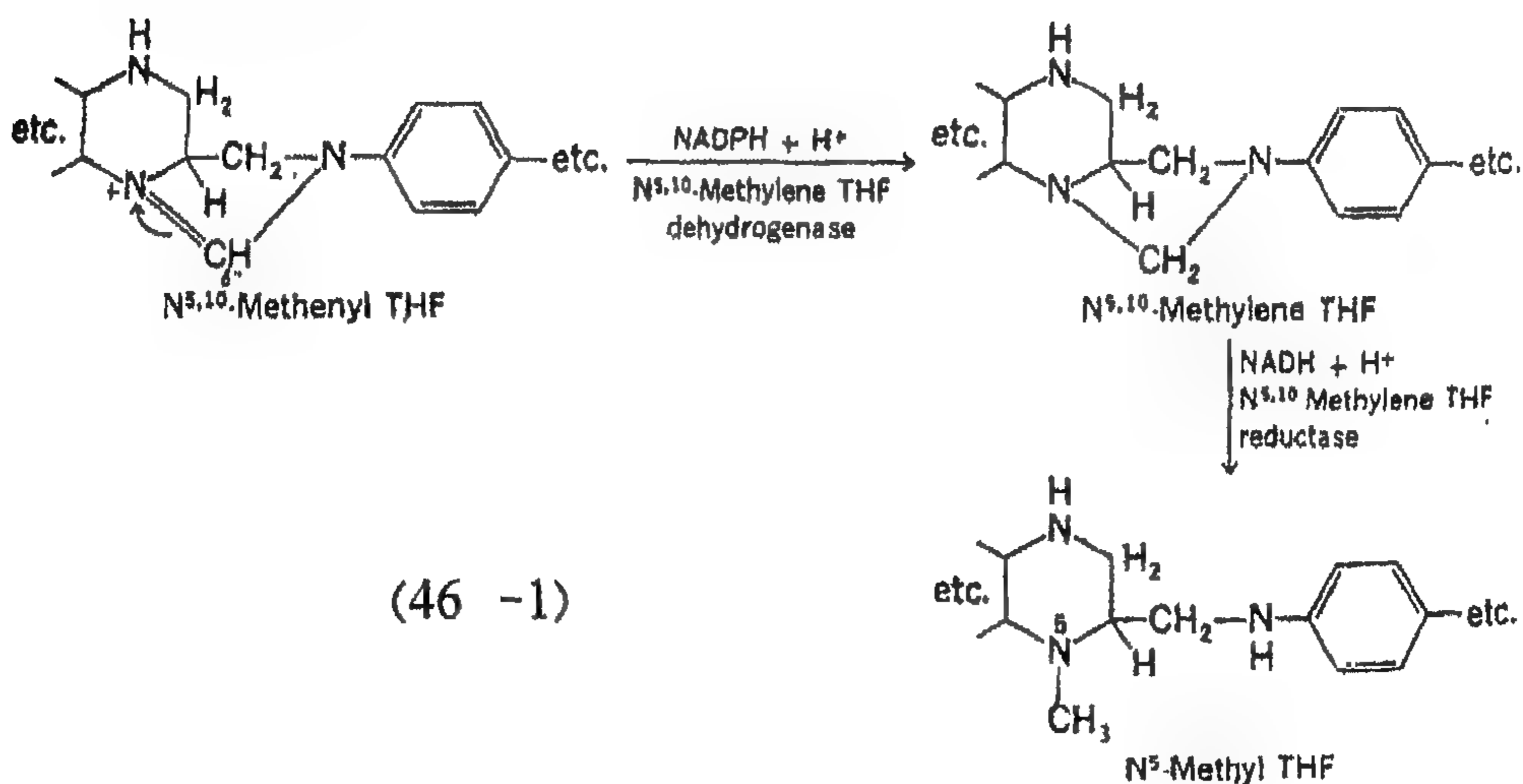
$H^+ \parallel$ N^{5,10}-Methylenyl THF cyclohydrolase



N^{5,10}-Methylenyl THF

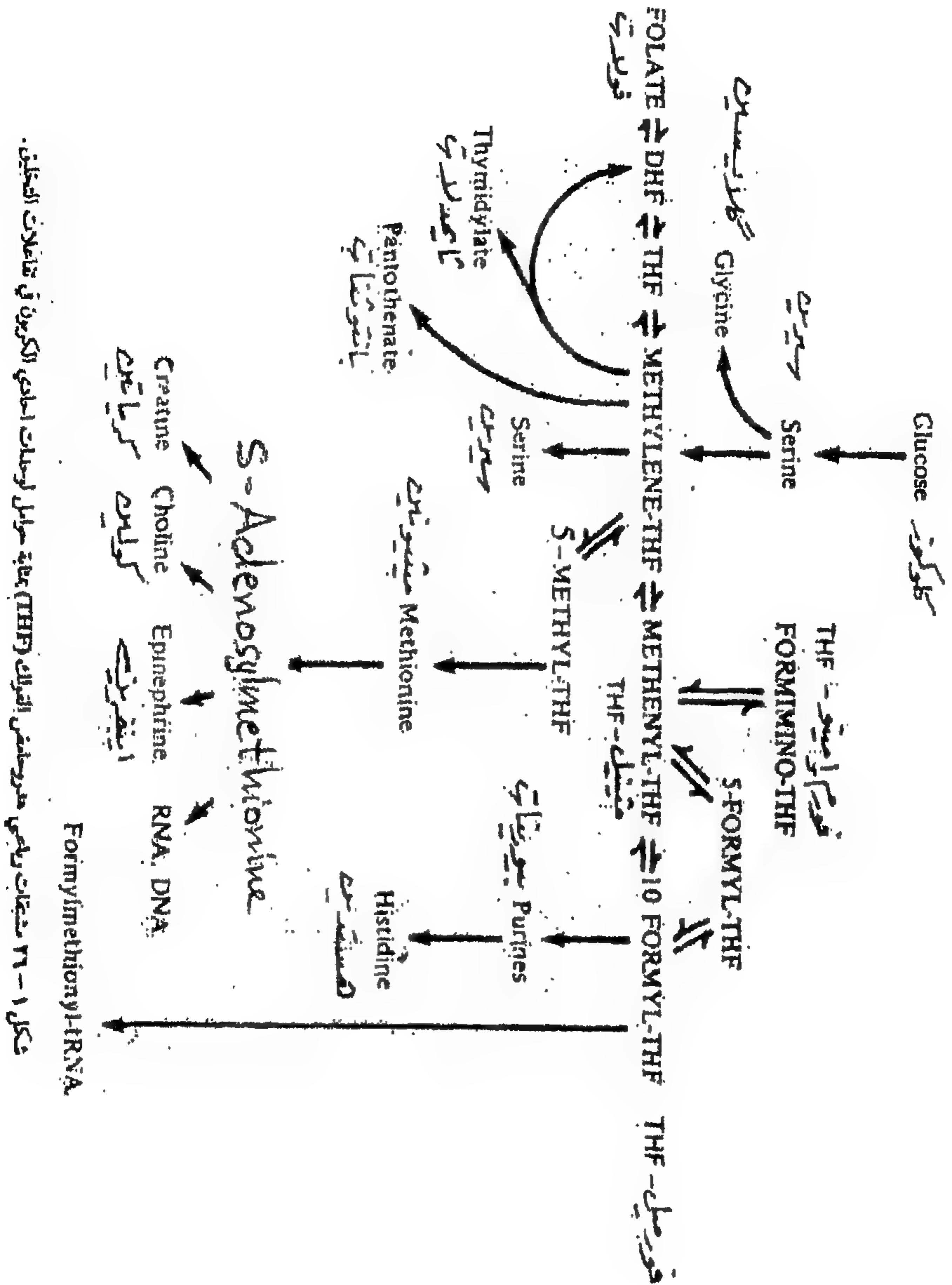
ويختزل المركب الناتج بواسطة NADPH وأنزيم Dehydrogenase

متخصص:



يوضح الشكل التالي (شكل 1-26) مشتقات THF حوامل لنقل وحدات

أحادية الكربون في تفاعلات تخليق مختلفة.



يؤدي نقص حامض الفوليك إلى تغير في مكونات الدم الخلوية ونشوء نوع مميز من فقر الدم يسمى بـ Megaloblastic anemia

1-4-8-3 تعيين حامض الفوليك

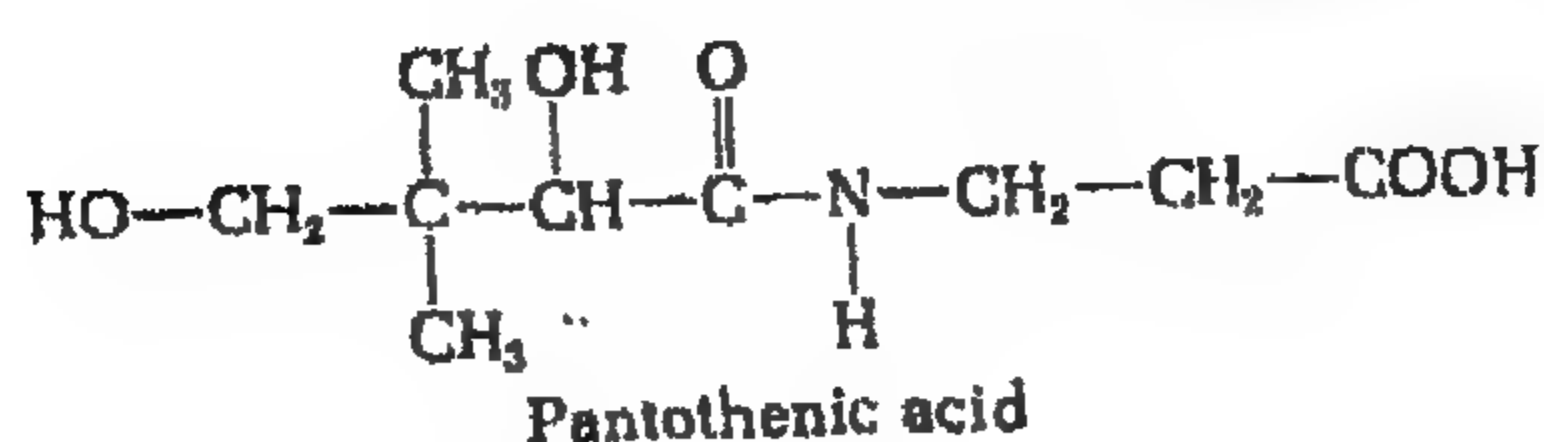
يمكن تعيين حامض الفوليك باستخدام الطرق الحيوية ويفضل استخدام الأحياء المجهرية ولقد تم استخدام البتكيريا والخمائر والاعفان لهذا الغرض ومن أفضل ما استخدم S.Faecalis و L.Casei تفضل الطرق الحيوية على الكيميائية لأن الأخيرة تفتقر إلى الخصوصية، ولقد استخدمت امكانية شطر الحامض Pteroylglutamic لإعطاء الحامض Aminobenzoic - أساس العديد من الطرق الكيميائية لتقدير حامض الفوليك. وتستخدم هذه الطرق لتعيين الفيتامين في المنتجات الدوائية عالية الفعالية.

لقد استخدم كذلك تألق أحد نواتج أكسدة الحامض pteroylglutamic (2-Amino-4hydroxypteridin -6-Carboxylicacid) عند تشعيه عند 365 نانوميتر. ولتقدير رباعي هيدروحامض الفوليك THF يتم التشيع عند 330 نانوميتر ثم تقاس كثافة تألق الجزيئة المهيجة عند 350 نانوميتر ويمكن بهذه الطريقة قياس تراكييز واطئة بحدود 10×2^{-4} مايكرومول/مللتر.

أمكن تعيين حامض الفوليك بوجود فيتامينات أخرى بتعيين ارتفاع امواج البولاروكراف في وسط قاعدي. وعند استخدام طرق الكروماتوكراف في سوية مع الطرق الحيوية المجهرية يمكن تعيين متماثلات حامض الفوليك المختلفة عنه بمجموعة وظيفية واحدة.

1-4-9 حامض البنتوثيك pantothenic acid

تم اكتشاف حامض البنتوثيك عامل نمو للخمائر ثم وجد بأنه فيتامين للإنسان، ويكون فعالا بصيغته (+) فقط



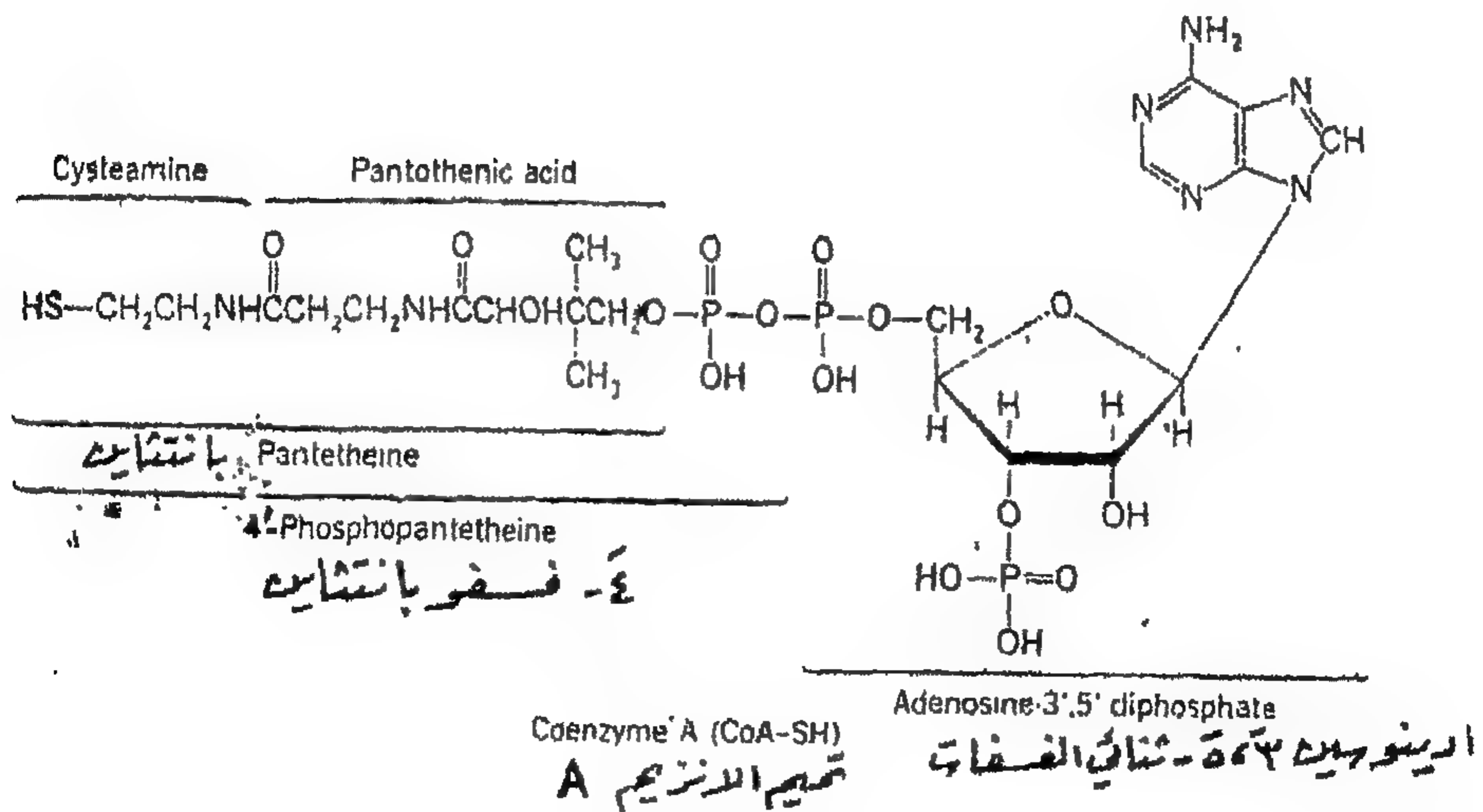
[D(+)-α, γ-dihydroxy-β, β-dimethylbutyryl-β-alanine]

يسمى الكحول المقابل لحامض البنتوثيك باسم Pantothenol ويعمل أيضا كفيتامين إلا أنه لا يظهر تأثيرا في نمو الأحياء المجهرية. حامض البنتوثيك زيت لزج يذوب بسهولة في الماء والاسeton والكحول المطلق Absolute alcohol، يتبلور بشكل ملح الكالسيوم ويستخدم بهذه الصيغة في تحضيرات الفيتامين. يكون حامض البنتوثيك في المحاليل المتعادلة ثابتا تجاه الضوء وأوكسجين الهواء الجوي إلا أنه حساس للحرارة ويتحلل مائيا إلى B- Alanine ولاكتون حامض البانتوك pantoic وكذلك الحال في المحاليل الحامضية أو القاعدية.

يفقد 10% من حامض البنتوثيك عند تعقيم الحليب، وعند طبخ الخضراوات يتراوح ما يفقد منه بين 10 و30%

1-9-4-1 وجوده

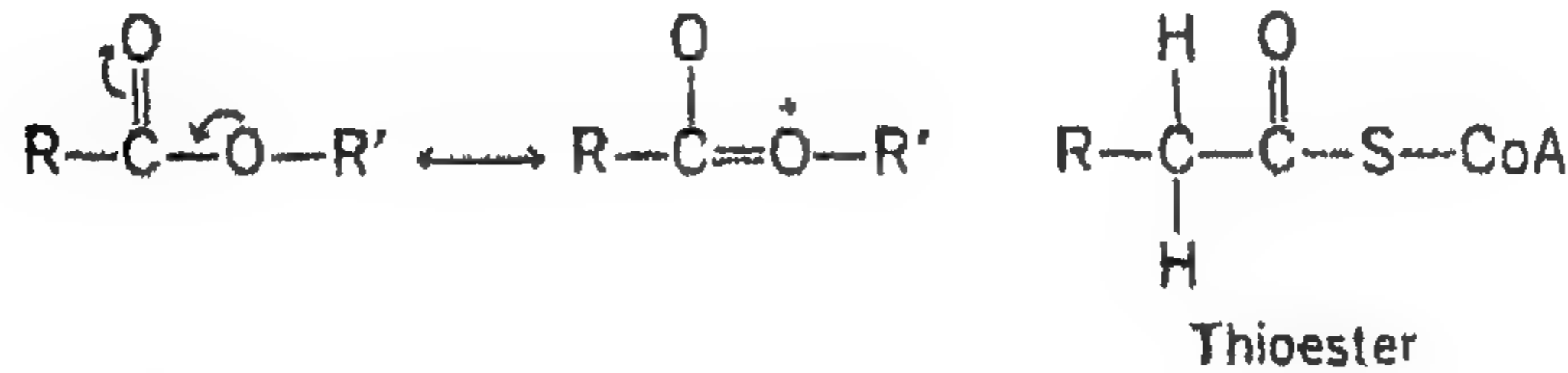
يوجد حامض البنتوثيك في الطبيعة بوصفه جزءا من تركيب تميم الأنزيم والبروتين الناقل للاسيل, Acy Carrier Protein تم عزل تميم الأنزيم (Coenzyme A) وتعيين تركيبه في أواخر الأربعينات من قبل F.Lipmann



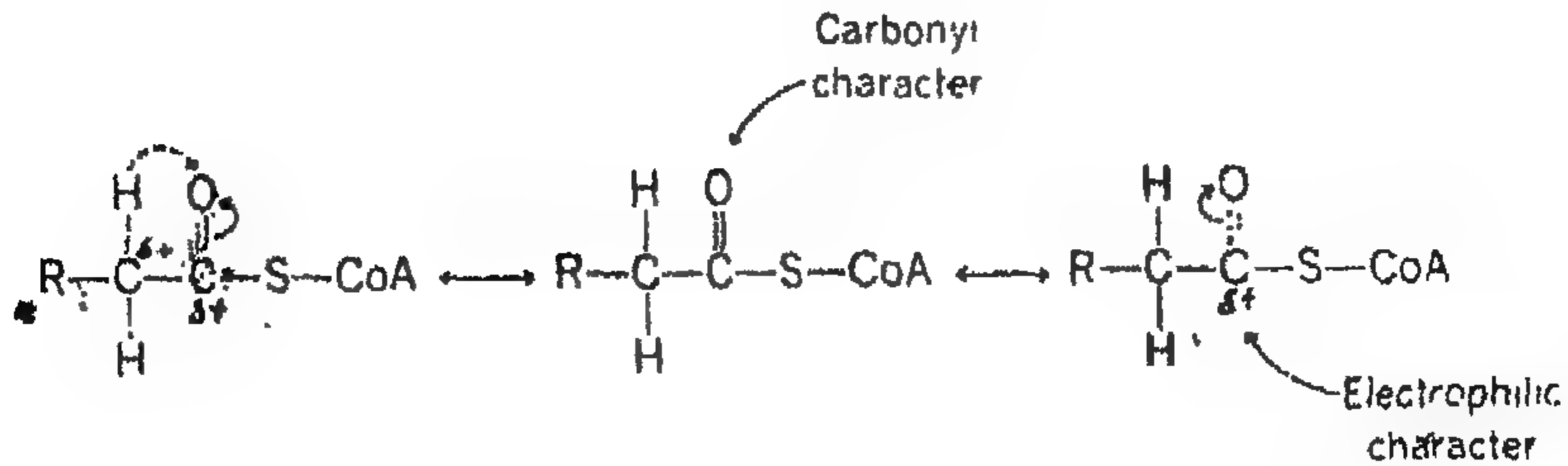
1-4-9-2 الوظيفة الكيميائية الحياتية

يعمل تميم الأنزيم A (Coenzyme) بمثابة ناقل لمجاميع الأسيل ويشجع تكاثف Condensation ثايواسترات الأسيل Acythioesters. ترتبط مجاميع الأسيل بتميم الأنزيم من خلال مجموعة الثايول للتميم. وتتميز استرات الثايول المتكونة من تميم الأنزيم A والحوامض الكريوكوكسيلية بخواص فريدة يعزى إليها الدور الذي يلعبه التميم الأنزيمي A في الكيمياء الحياتية. ويمكن فهم هذه الخواص بصورة جيدة عند مقارنتها ببعض خواص استرات الأوكسجين، يمكن كتابة صيغة رنين Resonance-form لأستراوكسجيني بحيث تكون ذرة أوكسجين الأسترو موجبة الشحنة وترتبط بأصرة مزدوجة إلى كربون مجموعة الكريوكسيل.

أما الكبريت فإنه لا يعطي إلكتروناته بسهولة لتكوين الأصرة المزدوجة ولهذا لا تظهر استرات الكبريت صيغ الرنين التي يمكن كتابتها للأستر الأوكسجيني وعوضاً عن ذلك،



تظهر استرات الثايول صفات الكربونيلات حيث يمتلك الكربون الكريوكسيلي شحنة موجبة جزئية فيما يمتلك الأوكسجين شحنة سالبة جزئية ونظراً للشحنة الموجبة الجزئية على

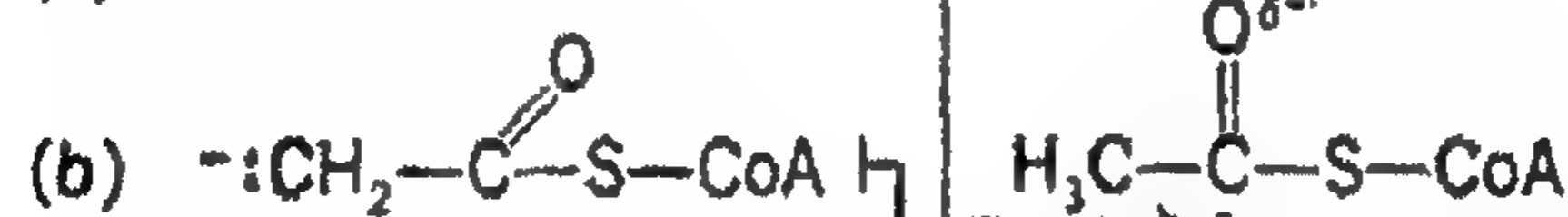


ذرة الكربون الكربوكسيلي، تميل ذرة الهيدروجين على ذرة الكربون-
 الفا المجاورة، إلى التفارق Dissociation بشكل بروتون تاركة وراءها شحنة
 سالبة جزيئة على ذرة الكربون-الفا. يستنتج مما تقدم الخاصية الالكتروفيلية
 Electrophilic لكربون مجموعة الكربوكسيل في استرات الثايول والخاصية
 النيوكليوفيلية Nucleophilic لذرة الكاربون-الفا. اضعف إلى ذلك عدم قدرة
 استرات الثايول على امتلاك صيغ رنينية كما كتب للاسترات الأوكسجينية،
 مما يجعل الجزيئة أقل استقرارا وتحرر كمية كبيرة من الطاقة الحرة -AC
 عند تحليلها المائي.

إن النيوكليوفيلات مثل الامينات والامونيا والماء ومركبات الثايول وحامض
 الفسفورك تستطيع أن تهاجم الموقع الإلكتروني وتزيج المجموعة (S- CoA) أما
 الإلكتروفيلات مثل CO_2 Acyl CoA والمعقد Carboxylated biotin Carboxyl
 Carrier Protein CO_2 BCCP (انظر 1-4-7-3) فإنها تهاجم الموقع النيوكليوفيلي

Nucleophile (δ^-)

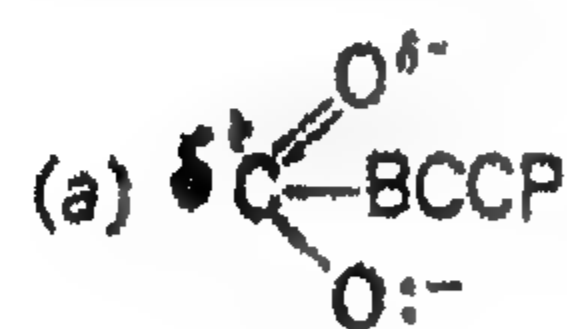
(a) $R-S^-$



(c) $H_2O:$

Acetyl-CoA as an electrophile

Electrophile (δ^+)

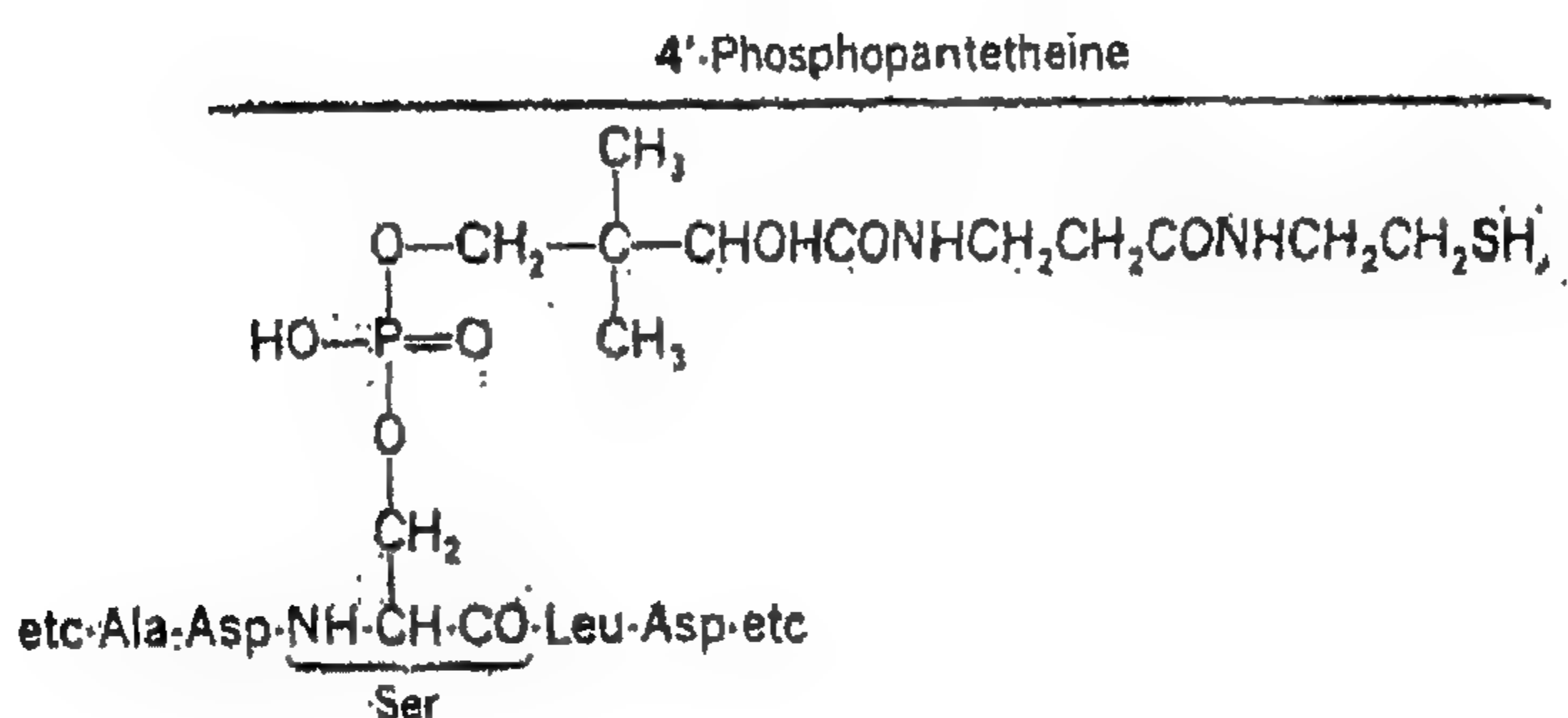


Acetyl-CoA as a nucleophile

شكل 1-27 دور الاستيل تميم الأنزيم (Acetyl CoA)A

كمركب نيوكليوفيلي والكتروفيلي

يلعب البروتين الثابت تجاه الحرارة والمسمى البروتين الناقل للاسيل Acylcarrier protein ACP دوراً مهماً في تخليق الحوامض الدهنية ومن ميزات هذا البروتين الوحدة 4-phosphopantetheine المرتبطة تساهمياً إلى مجموعة الهيدروكسيل لثمانية سرين في البروتين. ونظراً لوجود البنتثين Pantetheine، تستطيع الجزيئة أن تعمل بمثابة ناقل لمجموعة الاسيل بطريقة مماثلة إلى تميم A من خلال تكوين استر الثايول مع مجموعة السلفهيدريل (-SH) للبروتين



شكل 1-28 ارتباط المركب 4-Phosphopantetheine بثمانية سرين للبروتين الناقل

للاسيل ACP

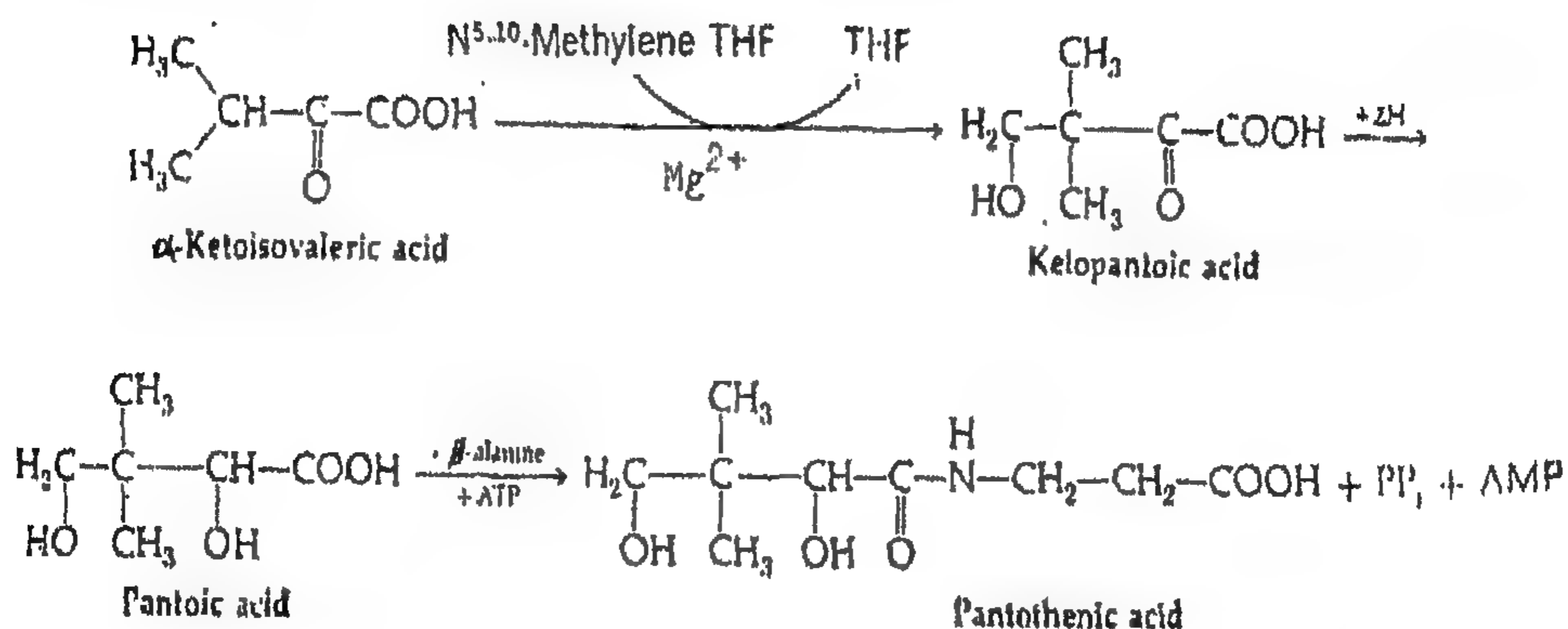
يوجد البروتين الناقل للاسيل ACP بحالة ذائبة في النباتات والبكتريا وأما في الأنسجة الحيوانية، فإن جزءاً من الجزيئة ACP يرتبط بصورة وثيقة بالمعقد الأنزيمي Fatty acid synthetase

1-4-9-3 التخليق الحيوي

يخلق حامض البنتوثيك في النباتات الخضراء ومعظم الأحياء المجهرية بمسلك موضح أدناه (شكل 1-29). يبتدي التخليق بالحامض Keto isovaleric الذي يشكل أيضاً الجزيئة السلف precursor المباشرة للفالين. يتكون Alanine-B عند إزالة الكربوكسيل لحامض الإسبارتك أو نقل الأمينو إلى

Malonic semialdehyde يحتوي أنزيم البكتريا E.Coli والمسمى Asprate decarboxylase على ثمالة pyruvoyl مرتبطة تساهمياً. إن الطافرات التي تفتقر لهذا الأنزيم تحتاج إلى B- Alanine أو حامض البنتوثك لنموها.

لم يلاحظ نقص لحامض البنتوثك في الإنسان إلا أنه أحد المكونات الغذائية الأساسية لجميع الحيوانات ويعتقد بأن 5-10 ملغم منه يومياً تسد حاجة الجسم إليه، يعين حامض البنتوثك باستخدام الأحياء المجهرية أو بتجارب الحيوانات.



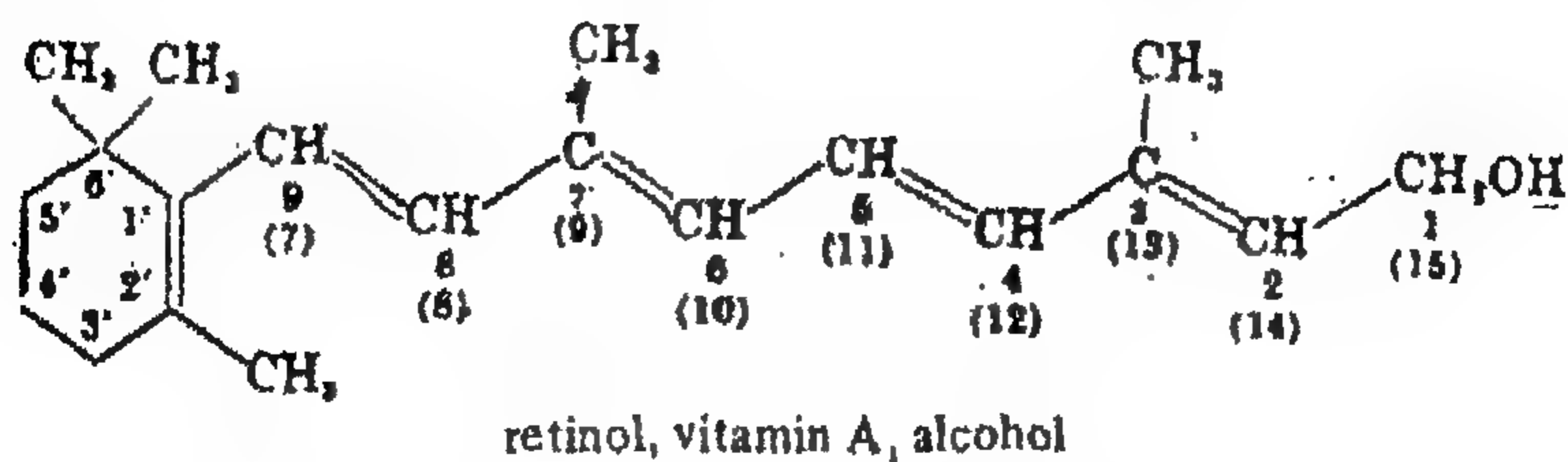
شكل (1- 29) تخليق حامض البنتوثك في خميرة الخبز ابتداء من الحامض α - Ketoisovaleric

15-1 الفيتامينات الذائبة في الدهون

1-5-1 فيتامين A (Retinol)

وهو من الفيتامينات الذائبة في الدهون.

إن أفضل مركب طبيعي يمتلك فعالية فيتامين A هو ريتنول أو فيتامين A وهو كحول مشتق من هيدروكربون غير مشبع طويل السلسلة فتكون من وحدات الإيزوبرين:



تحتوي السلسلة الجانبية على أربع أواصر مزدوجة متبادلة Conjugated وتكون هذه الأواصر متبادلة مع الاصرة المزدوجة للحلقة B- lonone.

الصيغة الموجودة في الطبيعة لفيتامين A هي ترانس تام All-trans والصيغ المحضرة كيميائياً تكون كذلك ترانس تام وبما أن فيتامين A كحول، فإنه يستطيع تكوين استرات مع الأحماض الدهنية. إن أغلب الاسترات شيوعاً هي استرات الأحماض الدهنية طويلة السلسلة الهيدروكربونية.

تكون الاسترات أكثر ثباتاً تجاه العوامل الفيزيائية أو الكيميائية وكمثال الأوكسجين الجوي والحرارة ويحضر فيتامين A عادة بشكل استات أو بالمئات Palmitate.

يحتوي فيتامين A₂ على أصرة مزدوجة أخرى في الحلقة ويوجد في زيوت أكباد أسماك المياه العذبة.

إذا أكسدت مجموعة الكحول لفيتامين A، يتحول الأخير إلى الالدهايد أو الحامض وكلا الجزئيتين تظهر فعالية فيتامين A محدودة ذلك لأن حلقة B- lonone الضرورية لفعالية فيتامين A لا تزال موجودة.

يمتلك فيتامين A (C₂₀H₃₀O) درجة انصهار 62-64°م وهو عديم الذوبان في الماء ولكن يمكن اذابته في المحاليل الغروية باستخدام المواد الفعالة سطحياً مثل توين Tween. يذوب فيتامين A بسهولة في الزيوت والدهون والبتروليوم الخفيف Light Petroleum والأثير والبنزين والميثانول والاستون والكلوروفورم ومذيبات الشحوم الأخرى. لفيتامين A خصوصية الامتصاص في المنطقة فوق البنفسجية عند 328 نانوميتر. ويختلف موقع قمة الامتصاص قليلاً تبعاً للمذيب.

تتفاعل مجموعة الهيدروكسيل لفيتامين A مع الاستات والبالمات لتكوين استرات:

استات فيتامين A ($C_{22}H_{32}O_2$):

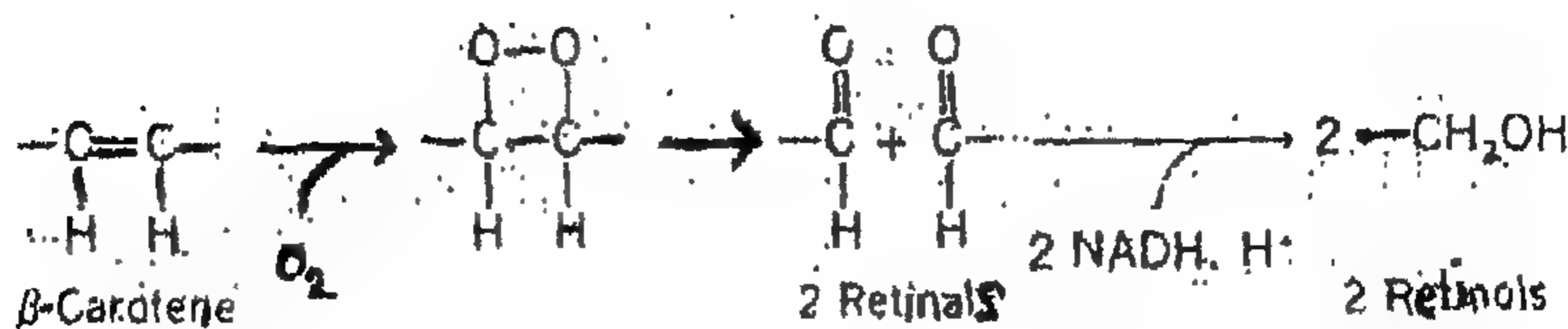
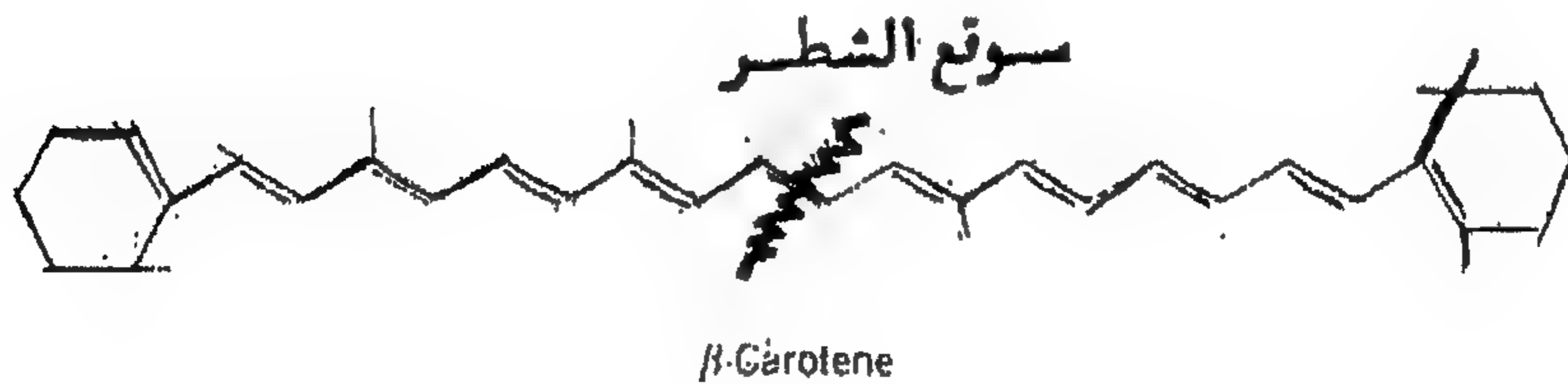
تمتلك درجة انصهار $57-60^\circ\text{C}$ ولها قابلية ذوبان مشابهة لفيتامين A_1 . امتصاصها للأشعة فوق البنفسجية مشابه تماماً لامتصاص فيتامين A_1 .

بالمات فيتامين A ($C_{36}H_{60}O_2$):

تمتلك درجة انصهار $28-29^\circ\text{C}$ ولها ذوبان مشابه لفيتامين A وأستات فيتامين A.

اسلاف فيتامين A Vitamin A precursors

إن بعض الكاروتينويدات Carotenoids أسلاف لفيتامين A ويستطيع الحيوان والإنسان أن يكون فيتامين A من اسلاف الفيتامين المتناولة في الغذاء. ومن أهم أسلاف الفيتامين provitamins و Carotene و Carotene و Carotene و Cyptoxanthine. وتكون جميع أسلاف الفيتامين الموجودة في الطبيعة بصيغة ترانس تام All-trans. عندما يتحول B. Carotene إلى فيتامين A في الإنسان أو الحيوان تشطر الجزيئة في الوسط تماماً.



1-5-1 وجوده

يخلق البيتا- الكاروتين مع الفا والكاما والكريتوزانتين Cryptoxanthine من قبل النباتات العليا ولا تستطيع الحيوانات ذلك ولهذا تكون الخضراوات الورقية الخضراء مصادر جيدة لاسلاف الفيتامين. ونظراً للخاصية رهابية الماء Hydrophobic توجد الكاروتينات كذلك في الحليب والمستودعات الدهنية للحيوانات وفي الكبد حيث يخزن ويحتوي زيت الكبد لسماك الماء العذب فيتامين A_2 .

1-5-1-2 التحضير الصناعي لفيتامين A

يمكن إنتاج فيتامين A تجارياً بشكل مركبات فيتامين A Concentrates وذلك بالتقطير الجزئي من مصادر طبيعية وخصوصاً من زيوت كبد السمك كما يمكن الآن تحضير فيتامين A كيميائياً على الصعيد التجاري.

أ. عزل فيتامين A والكاروتينات من المصادر الطبيعية

يمكن عزل فيتامين A من زيوت أكباد الأسماك وذلك بصوبنة الزيوت أولاً في 3-4 مرات حجمها هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي (10%) بمعدل عن الهواء (تحت النتروجين). تعزل المواد غير المصوبنة وتزال السترويدات ببلورتها من الميثانول. وينقى فيتامين A بالتقطير الجزئي في درجات حرارة وضغط منخفضين نسبياً (لأن فيتامين A غير مستقر في درجات الحرارة العالية). إن توفر فيتامين A المحضر كيميائياً جعل عزله من مصادر طبيعية ذا أهمية تاريخية فقط.

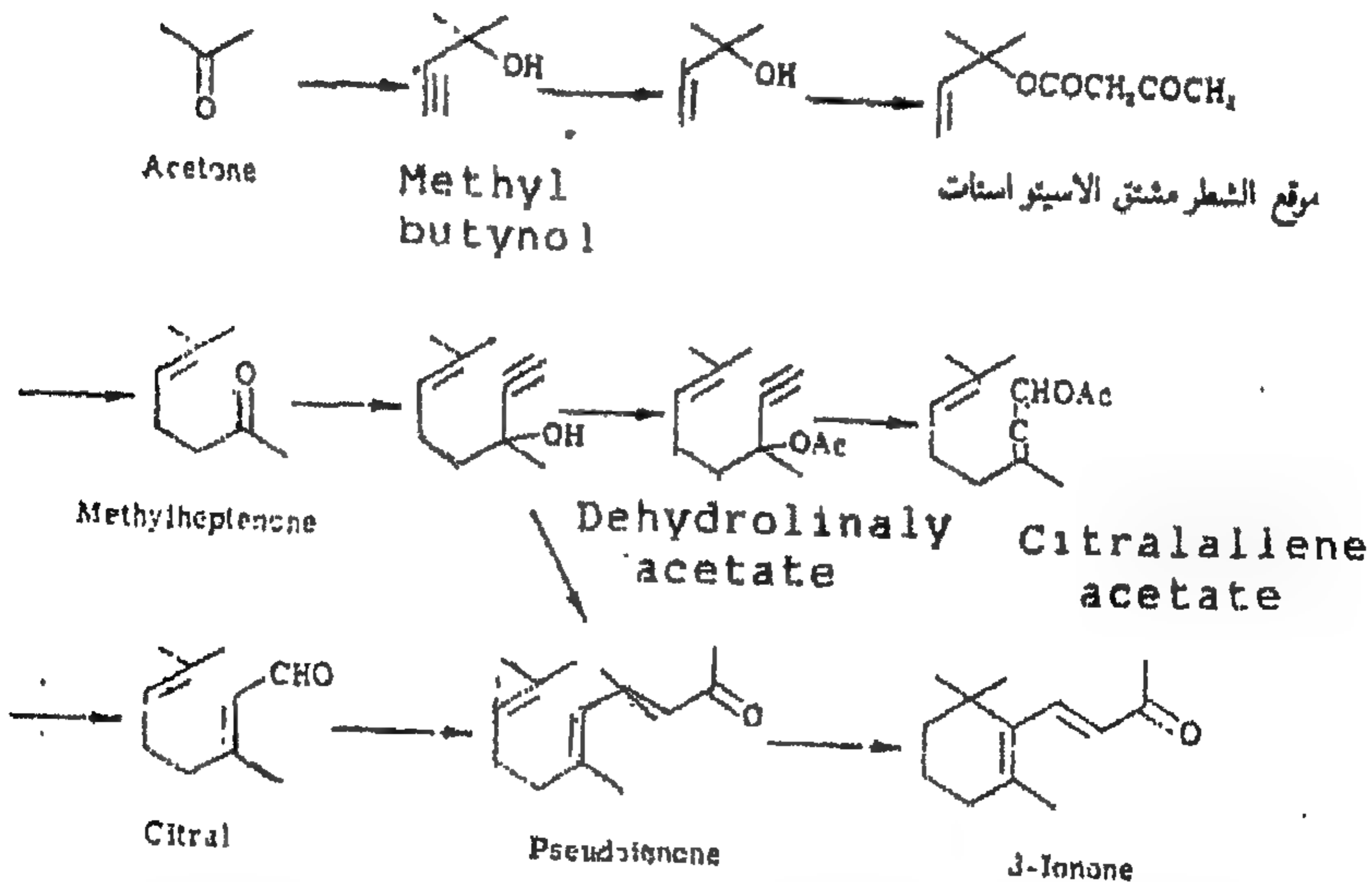
يمكن عزل الكاروتينات من الأوراق المجففة والجزر والبج Alfalfa وزيوت النخيل كما يمكن إنتاج الكاروتينات بواسطة الأحياء المجهرية وكمثال من بعض سلالات Blakesled trispora

لقد استخدمت عدة طرق للعزل تتكون بصورة رئيسية من عملية استخلاص

بالمذيبات الحارة أو الباردة وذلك بغمر النسيج فيها أو مجانسته أو طحنه. تحتوي منتجات الجزر على مزيج من بيتا والفا-كاروتين فيما تحتوي خلاصات زيوت النخيل إضافة إلى ما ذكر على كاروتينويدات أخرى مثل Xanthophylls

ب. تحضير فيتامين A

يعتمد التحضير الصناعي لفيتامين A والبيتا كاروتين B- Carotene و Apocarotenoids على الحلقة β -lonone يمكن تحضير هذا الكيتون أحادي الحلقة (C_{13}) الذي يشكل المنتج الأساس في صناعة العطور، ابتداء بالاستون والذي يكشف مع الاستلين ثم يفاعل الناتج Methylbutynol مع Diketene لتكوين الاسيتواستات المقابل له (شكل 1-30) والذي يتحول إلى Methyl heptanone بالتحلل الحراري Pyrolysis. إن التكاثف اللاحق مع الاستلين والذي يلحق بالاستلة Acetylation يؤدي إلى Dehydrolinalyl وعند إعادة ترتيب الجزيئة يتكون Citralallene acetate الذي يتحلل مائياً بسهولة إلى Citral. يتكاثف السترال مع الاستون لإعطاء Pseudoionone الذي يتحول إلى β -lonone بتكوين الحلقة السداسية (شكل 1-30)



شكل 1-30 تحضير β -lonone صناعياً ابتداء من الاستون

β-يونون (C13)

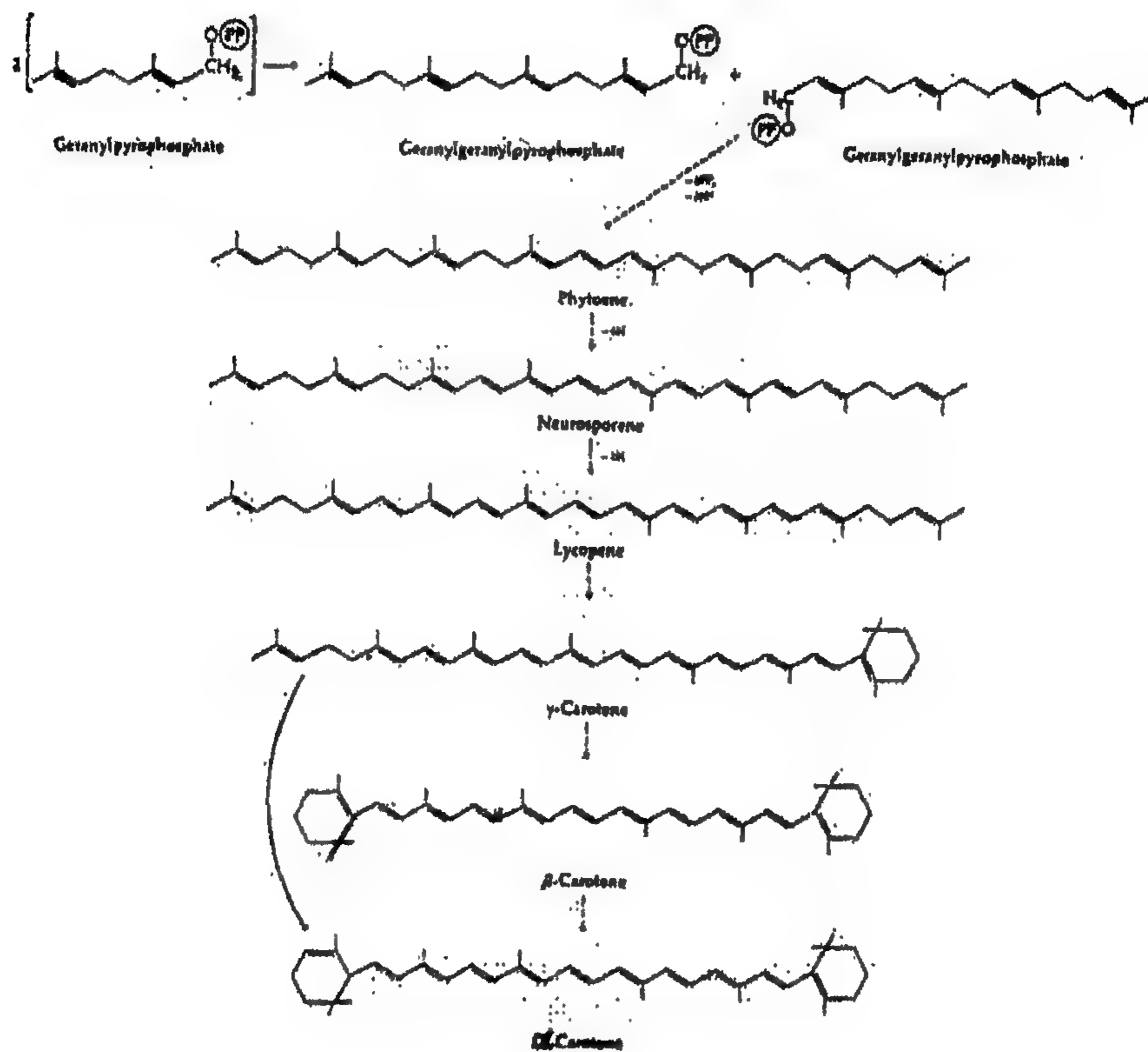
(C14)

فيتامين A₁ (retinol)

شكل (31-1)

إن الكاروتينات والريتول عبارة عن تريينات. يوضح الشكل (1-32) مسلك تخليقها الحياتي في النباتات. إن الجزيئات السلف المستخدمة في تخليق الستيرولات تستخدم أيضاً لتخليق الكاروتينات وهكذا بتكاثف جزيئتان من

Geranyl pyrophosphate يتكون Geranylgeranyl pyrophosphate ويتكاثف جزيئين منه يتكون phytoene. ويتكون أربع أواصر مزدوجة على مراحل، يتحول phytoene إلى Lycopene. ويتكوين الحلقة السادسة تتكون الكاروتينات (شكل 1-32).



شكل (1-32) التخليق الحيوي للكاروتينات (المصدر 12)

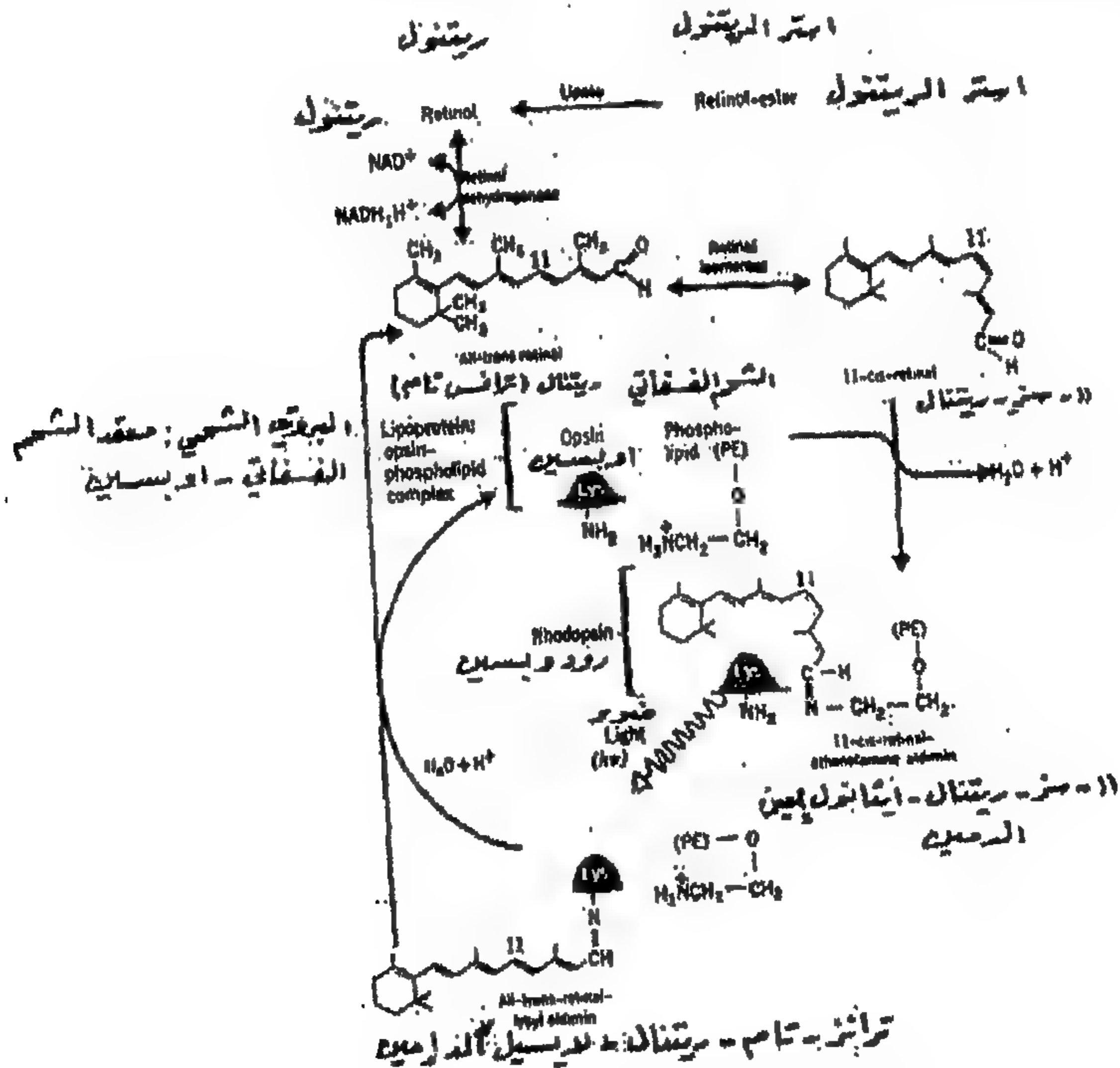
استر الريبينول ريبينول الشحم الفسفاتي ريتينال (ترانس تام) البروتين الشحمي؛ معقد الشحم الفسفاتي- اوبسين رودوبسين ضوء ضوء 11- ريتينال- إيثانول إمين الدمين تزانز-تام- ريتينال- لا يسيل الدمين البروتين الشحمي؛ معقد الشحم الفسفاتي- اوبسين.

5-1-5 فيتامين A وتغذية الإنسان

لفيتامين A وظائف متعددة فهو جوهري ليس فقط للنظر (شكل 1-33) وإنما للنمو ولتطور الأنسجة الظهارية Epithelial ولتطور وسلامة الأنسجة الهيكلية Skeletal tissue ولإنطاف Spermatogenesis ولتطور المشيمة والحفاظ عليها.

يعبر عن فعالية فيتامين A في الأغذية كمكافئات الريتينول Retinol equivalent,

RE يمثل RE مايكروغراماً واحداً من الريتينول أو 6 مايكروغرامات من بيتا-كاروتين. يؤدي الأوكسجين الجوي إلى أكسدة الأواصر المزدوجة في الريتينول والكاروتينات وبالتالي فقدان فعالية الفيتامين.



شكل 1-33

يوضح شكل (1-33) دور فيتامين A في دورة النظر، يتراكم الريتينول في خلايا القضبان Rods للقرينة بشكل إسترات. يؤكسد الريتينول في القضبان بانزيم خاص. Retinol dehydrogenase إلى All-trans- retinal الذي يتحول إلى retinal 11—Cis بالأنزيم Retinal isomerase. في الظلام، يقترن هذا الالدهيد مع بروتين شحمي وهو المعقد opsin phospholipid وبذلك يتكون الرودوبسين Rhodopsin الحساس للضوء. يكون Cis-retinal-11 قاعدة Schiff مع (PE) phosphatidylethanolamine وأواصر هيدروفوبية مع الاوبسين Opsin على التوالي. عندما يسقط الضوء على الرودوبسين، يتحول Cis-retinal-11 إلى All-trans- phospholipid الذي لا يستطيع تكوين أواصر رهابية الماء مع المعقد Opsin- phospholipid. يكون All-trans- retinal بعد ذلك قاعدة Schiff مع مجموعة لايسين في الاوبسين وهذا يتحلل ما ثياً بعد ذلك إلى All-trans- retinal والمعد Opsin-phospholipd

وفي الأغذية الطبيعية تحمي هذه المركبات من الضرر لوجود مضادات للأكسدة Antioxidants بصورة طبيعية فيها مثل فيتامين E.

عند الأكسدة الذاتية للدهون الصالحة للأكل، يتلف فيتامين A الموجود فيها، كما يتلف فيتامين A كلياً عند تصلد Hardening الدهون وكمثال عند هدرجة Hydrogenation زيوت الأسماك.

يجب الابتعاد عن تجفاف الأغذية النباتية في ضوء الشمس المباشر لأن فقدان الكاروتين قد يكون كبيراً بوجود O_2 تحت درجات حرارة عالية. غالباً ما يصاحب تلف فيتامين A وإسلافه، أكسدة الدهون أنزيمياً وهذا ما يحصل عند تجفاف الأغذية إذا لم يسبق تثبيط الأنزيمات فيها.

إن محتوى الفواكه والخضراوات من فيتامين A والكاروتينات لا يتأثر بدرجة كبيرة بالمعاملات المنزلية الإعتيادية للأغذية كما لا يؤثر فيها الحفظ في الزجاجات أو العلب.

تعتمد إستفادة الجسم من الفيتامين والكاروتين الموجود في الغذاء على محتوى الأخير من الدهون. فعند تناول كميات كبيرة من الدهون، تكون درجة الامتصاص أعلى مما في غيابها ويكون التأثير أكبر للكاروتينات منه لفيتامين A نفسه. أن الامتصاص قليل جداً من الخضراوات النيئة فمثلاً يطرح 98% من كاروتينات الجزر والموجودة فيه بكميات كبيرة. وعند وجود اللسثين وعوامل إستحلاب Emulsifiers أخرى، يمتص الجسم فيتامين A وإسلافه بصورة أفضل نظراً لتوزيعه المنتظم كما أن إمتصاص الكاروتين يزداد بوجود الصفراء والبروتين في الأغذية.

1-5-2 فيتامينات D

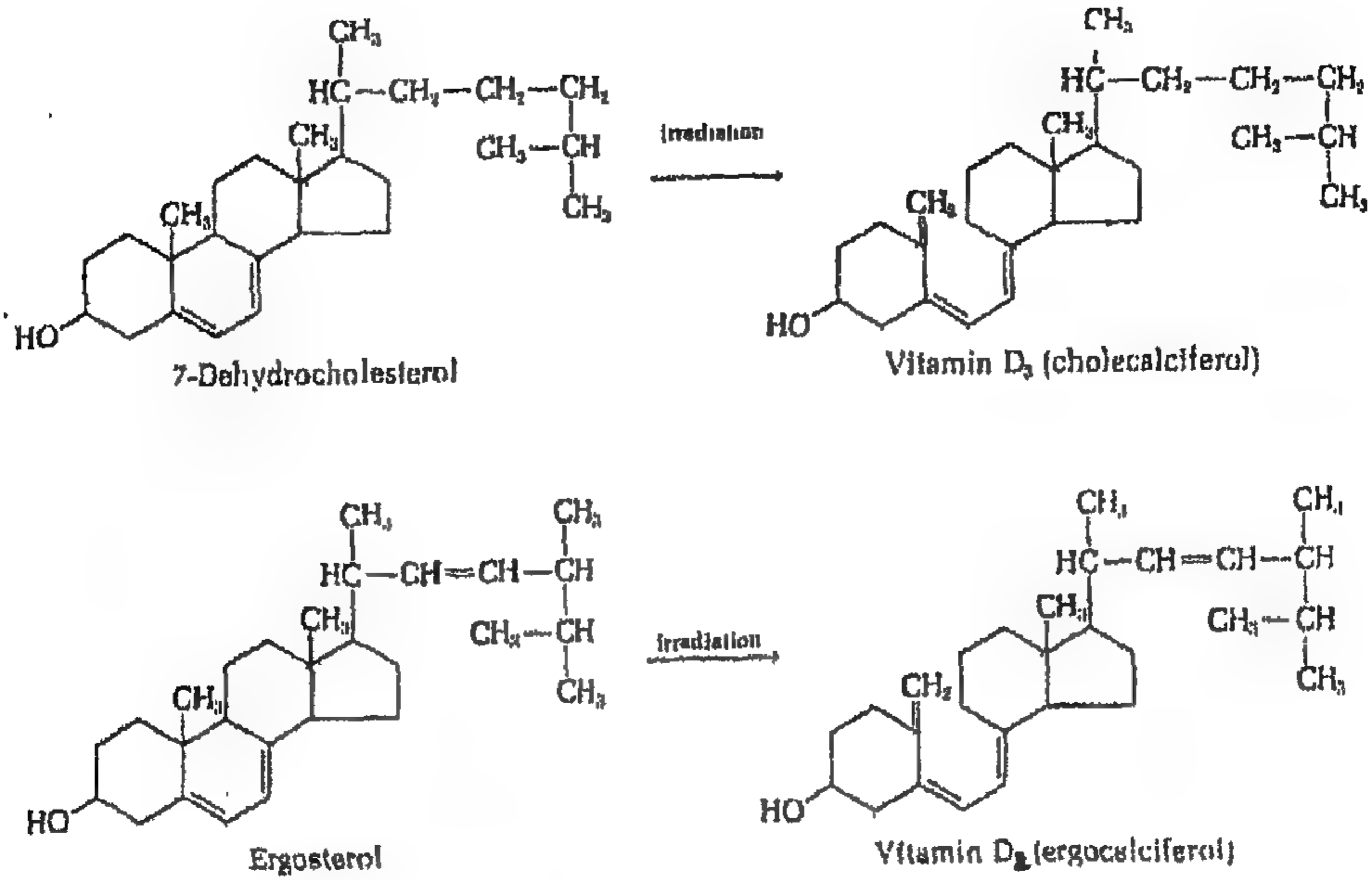
يلعب فيتامين D دوراً جوهرياً في السيطرة على أيض الكالسيوم والفسفور ووجوده ضروري لتكوين العظام والأسنان.

يعد الكبد وزيت الأسماك مصادر غنية به ويؤدي نقص فيتامين D إلى الكساح.

من أهم فيتامينات D، فيتامين D_2 أي Ergocalciferol وفيتامين D_3 أي cholecalciferol.

يمكن إنتاج كلا الفيتامينين بتشعيع الستيروول المناسب بالأشعة فوق البنفسجية المناسبة (230-313 نانوميتر). يتكون D_3 من تشعيع 7-Dehydrocholesterol

وفيتامين D_2 من الستيروول النباتي Ergosterol. ومن الجدير بالذكر وجود 7-Dehydrocholesterol طبيعياً في الطبقات البشرية Epidermal layers.



شكل 1-34 تكوين فيتامين D₂ وفيتامين D₁ من تشعيع 7-Dehydrocholesterol و Ergosterol على التوالي

يؤدي استمرار التشعيع إلى تكوين مركبات إضافية لا يعرف تركيب البعض منها وتسمى Suprasterol وToxisterol.

1-2-5-1 الخواص الفيزيائية الكيميائية

فيتامينات D مواد عديمة اللون والرائحة، ثابتة تجاه الأوكسجين في محلول زيتي حتى في درجة 100°م (عكس فيتامين A) وهي غير حساسة للقاعدة ولكنها حساسة للضوء.

لا يذوب فيتامين D₂ في الماء، ويكون قليل الذوبان في الزيوت والدهون ولكنه يذوب بسهولة في المذيبات العضوية. يظهر المركب فعالية بصرية، وتعتمد القيمة على المذيب المستخدم. يتميز محلول فيتامين D₂ في المذيبات العضوية

بطيف امتصاص ذي قمة بالقرب من 265 نانوميتر في الكحول. قابلية ذوبان D_3 ذوبان D_2 ويتشابه طيف امتصاصه مع طيف امتصاص فيتامين D_2 .

1-2-5-2 وجود فيتامينات D

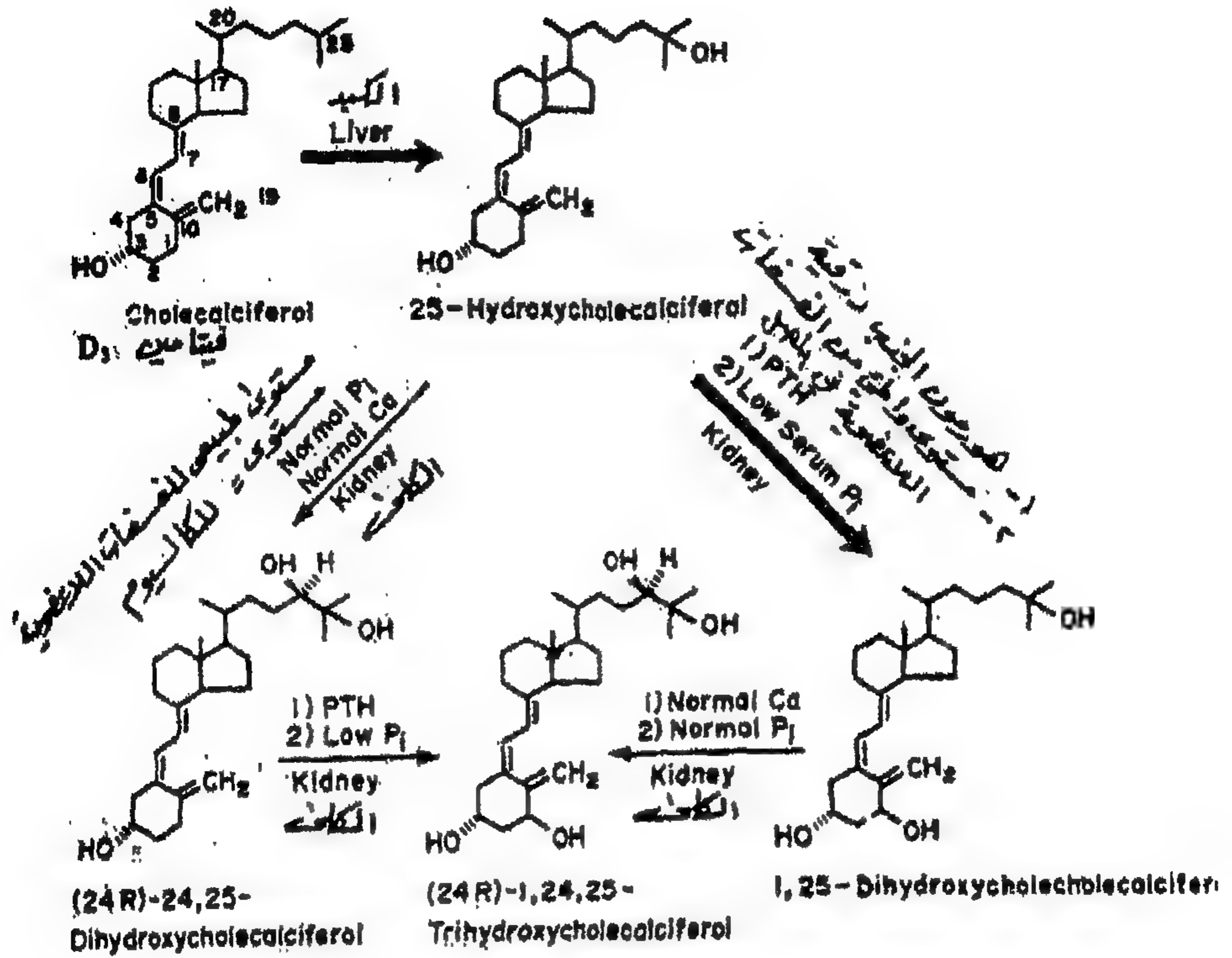
لا يوجد فيتامين D بكميات كبيرة في الطبيعة، يوجد أعلى تركيز لفيتامين D في زيوت الأسماك مقارنة بالأغذية الأخرى بشكل الحليب ومنتجاته والبيض وكبد الثور والخنزير أهم مصادره في غذاء الإنسان ويعتقد بأن فيتامين D_3 يوجد فقط في زيت كبد السمك.

تحتوي العديد من الأغذية على كميات لا يستهان بها من أسلاف فيتامين Provitamins - D وخصوصا الحليب ومنتجاته والبيض والفطر، تتراكم أسلاف فيتامين D بصورة رئيسية في الجلد ويكون جلد الخنزير مصدرا غنيا بها.

أن فيتامين D_3 (7-Dehydrocholesterol) من الكولسترول في الكائن الحي، يشكل الناتج الأيضي الاعتيادي ويتراكم بصورة رئيسية في الجلد، لا يمتلك جسم الإنسان النظام الأنزيمي القادر على تحقيق تحول سلف فيتامين D_3 إلى فيتامين D_2 . ويحصل هذا التحول فقط عند تعرض الجلد إلى ضوء الشمس أو الأشعة البنفسجية. وفي حليب الأبقار يكون محتوى فيتامين D أعلى إذا كانت الأبقار خارجا عن المراعي.

1-2-5-3 أيض فيتامين D

عرفت فيتامينات D منذ زمن بعيد بفعاليتها ضد كساح الأطفال. أن هذه الفعالية تعود للتحول الأيضي لفيتامين D إلى D_{25} -Dihydroxy Vitamin الذي يشكل واحدا من أهم المنظمات الفيزيولوجية لأيض الكالسيوم (Ca^{2+})



شكل (1-35) التفاعلات الأيضية التي تشمل على فيتامين D₃ ومواقع تنظيمها

المسلك المهم لتكوين الصيغة الفعالة 1,25 Dihydroxy vitamin D هو تحويل فيتامين D₃ إلى 25-Hydroxycholecalciferol في الكبد. إن Parathyroid hormone (PTH) هرمون الغدة الدرقية يحفز تحويل 25-Hydroxycholecalciferol إلى 1,25-Dihydroxycholecalciferol في الكلى. إن 1,25-Dihydroxycholecalciferol هو الشكل النشط من فيتامين D₃ الذي يعمل على تنظيم مستويات الكالسيوم والفوسفات في الدم. إن 1,25-Dihydroxycholecalciferol هو الشكل النشط من فيتامين D₃ الذي يعمل على تنظيم مستويات الكالسيوم والفوسفات في الدم.

1-5-2-4 الفعالية الحيوية لفيتامين D

إن الوظيفة الأساسية للصيغ الفعالة لفيتامين D (Dihydroxy Calciferols) هي الحفاظ على أيونات Ca²⁺ في المصل بتركيز وافية للنمو وترسيبها في العظام (Mineralization). ويتم ذلك بتأثيرها في الأمعاء والعظام.

والكلّي أيضاً.

ينبه 1.25 Dihydroxycholecalciferol امتصاص Ca^{+2} من الأمعاء وطرح الكالسيوم والفوسفات بواسطة الكلّي وترسب الكالسيوم والفوسفات في العظام.

1-5-2-5 الحاجة اليومية لفيتامين D

من الصعوبة بمكان تحديد الحاجة المطلقة اليومية لفيتامين D وذلك لأنه يتكون بصورة طبيعية في جسم الإنسان بمساعدة ضوء الشمس ويقدر ما يحتاجه الرضع ب 400-500 وحدة عالمية IU يوميا. تعادل الوحدة العالمية 0.25 غم من فيتامين D_3 البلوري؛

1-5-2-6 تعيين فيتامين D

يمكن تعيين فيتامين D بطرق مختلفة معيارية Standard يستخدم فيها تجارب الجرذان وكتاكيت الدجاج.

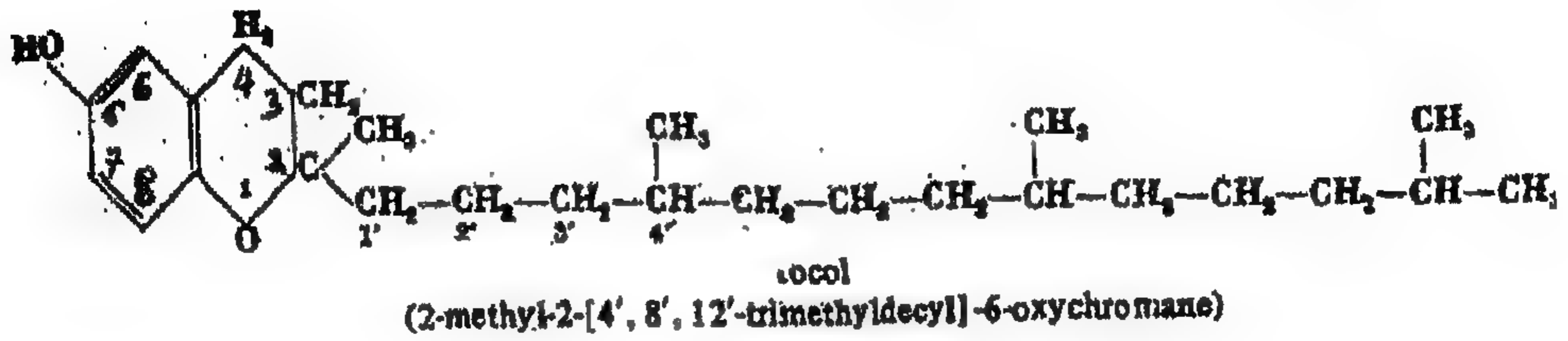
اعتمد خلال السنوات العشر الماضية، اختبار جديد لتعيين فيتامين D يستخدم فيه الفوسفات أو الكالسيوم الموسوم بالنظير المشع ويحدد المتراكم منه في عظام الحيوانات التجريبية.

إن كلتي الطريقتين دقيقة جدا ويمكن إجراؤهما بفترة زمنية أقصر مما تتطلبه الطرق الكلاسيكية.

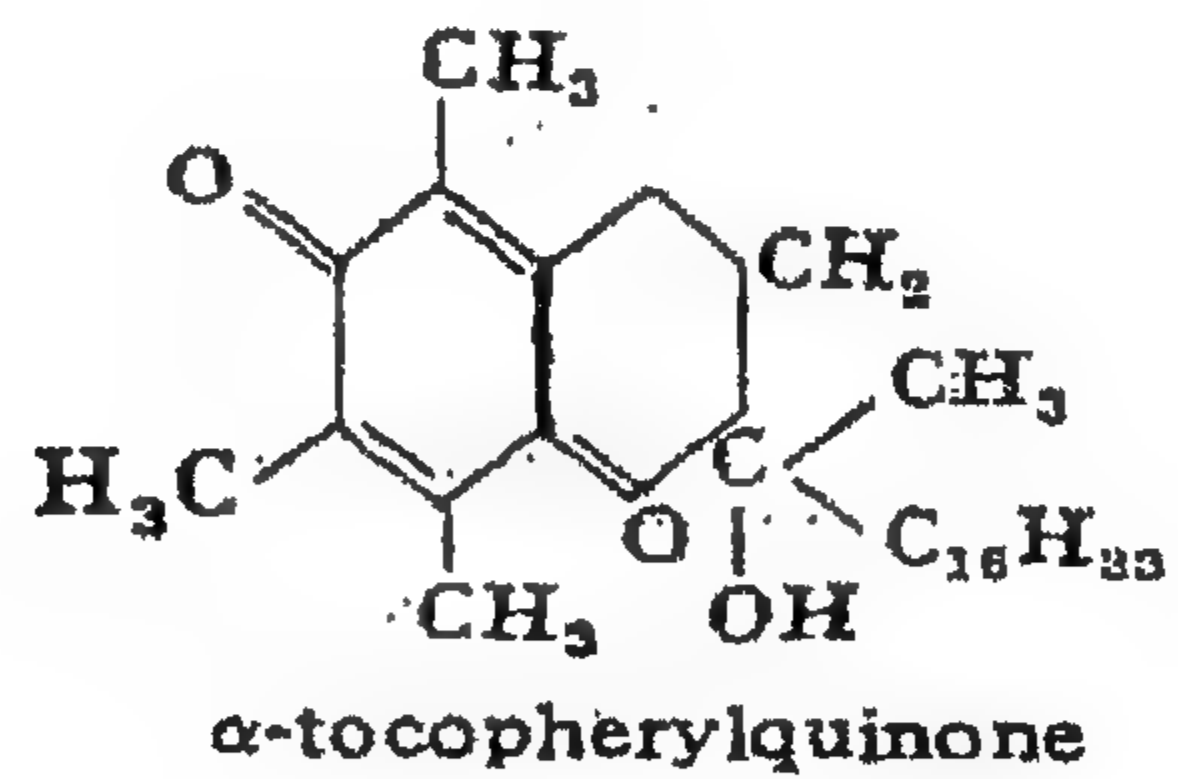
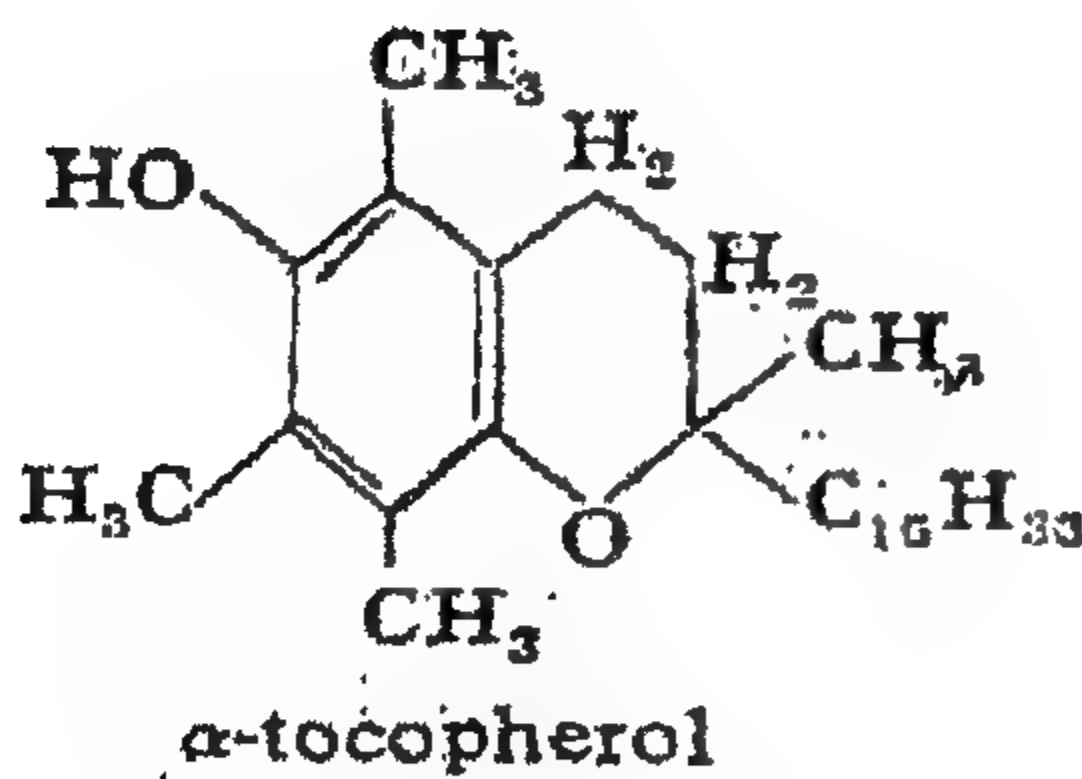
الطرق الكيميائية لتعيين فيتامين D في الأغذية صعبة نسبيا لأن فيتامين D يوجد بتراكيز ضئيلة وتوجد معه مواد كيميائية أخرى تتفاعل بصورة مشابهة. لا توجد طريقة كيميائية عامة لتعيين الفيتامين وتستخدم معظم الطرق التفاعل بين فيتامين D وثلاثي كلوريد الانتيموني بوجود كلوريد الاستيل الذي يعطي لونا اصفر لطريقة غير ناجحة لوجود كميات أكبر من فيتامين A ولهذا يجب التخلص منه بفصله عنه بكموماتوكرا في الطبقة الرقيقة.

1-5-3 التوكوفيرولات (مجموعة فيتامين E)

يوجد في الطبيعة عدد من المركبات التي تظهر فعالية فيتامين E تسمى هذه المركبات Tocopherol -x و Tocopherol -B و Tocopherol -A. أخرى، تشتق جميع هذه المركبات من المركب Tocol وتختلف عن بعضها بالمجاميع المعوضة في حلقة البنزين:



فمثلا α Tocopherol هو 5.7.8-Trimethyltolcol أما B Tocopherol فهو 5.8 - Dimethyltolcol و 7.8Dimethyltolcol = Tocopherol و 8-Methyl 5.8 - Dimethyltolcol = ϵ Tocopherol و Tocol = δ Tocopherol و 5-Methyltolcol = ϵ Tocopherol



1-3-5-1 الخواص الفيزيائية الكيميائية

التوكوفيرات زيوت لزجة في درجة حرارة الغرفة وقد يتبلور البعض منها عند انخفاض درجة الحرارة، للتوكوفيرولات لون اصفر باهت وهي قابلة للذوبان

في مذيبيات الشحوم ولكنها غير ذائبة في الماء. تتأكسد التوكوفيرولات ببطء بوجود الأوكسجين الجوي ولكنها ثابتة تجاه الحرارة في غيابه - إلى حوالي 200°م. يغمق لون التوكوفيرولات تدريجيا عند تعرضها للضوء وهي لا تتأثر بحامض الكبريتيك أو الهيدروكلوريك إلى حوالي 100°م كما أنه ثابتة تجاه القواعد في غياب الأوكسجين. وان استرات التوكوفيرول التي تحضر باسترة مجموعة الهيدروكسيل للفينول وكمثال Acyl tocophenols تكون ثابتة تجاه الأوكسجين الجوي وهي غالبا ما تكون بلورية.

تمتص التوكوفيرولات في المنطقة فوق البنفسجية عند حوالي 295 نانوميتر (جدول 8-1) Chromanol- Chromophore في محلول الايثانول وعند تكوين Acyl tocopherol ينحرف الإمتصاص إلى الأطوال الموجية الأقصر (276-285 نانوميتر) ويصاحب ذلك انخفاض في الإنطفائية $\{E_1\% \text{ icm} = (55-36)\}$

جدول (8-1) قيم الامتصاص للتوكوفيرولات في محلول الايثانول

المركب Tocopherol	X max	E 1% icm
-x	292	75.8
-B	296	89.4
-y	298	91.4
8-	298	87.3

1-5-3-2 وجود التوكوفيرولات في الأغذية

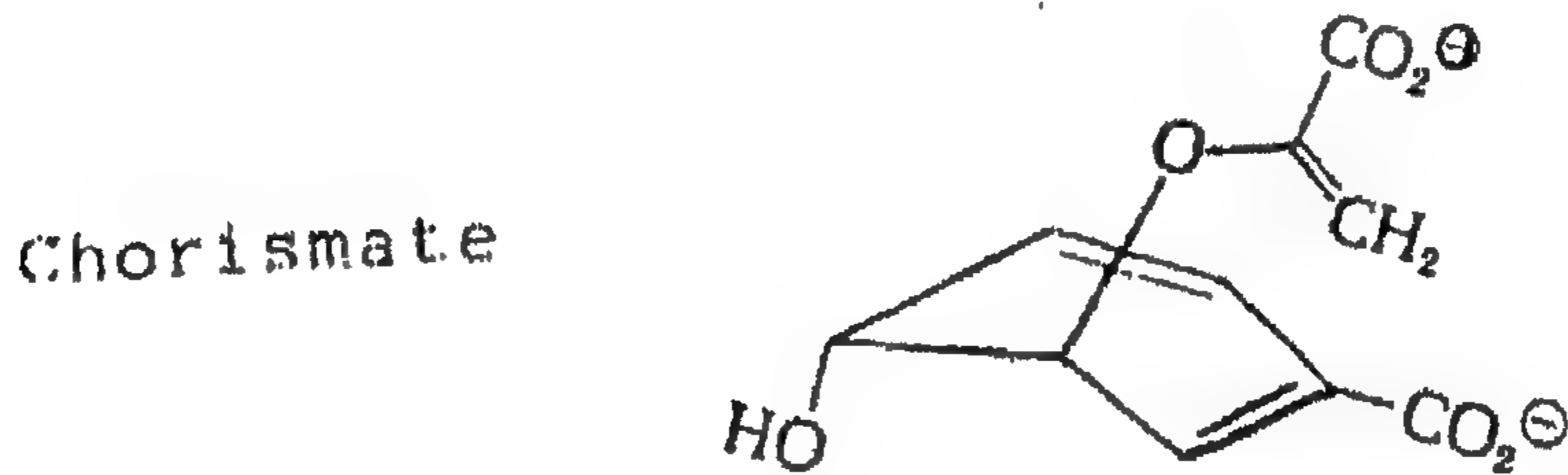
تنتشر التوكوفيرولات في الأغذية بصيغة غير مؤسترة وتوجد بأعلى تركيز في زيوت حبوب الفصيلة النجيلية Cereal كالحنطة والشعير والذرة والأرز. تدل الإحصائيات في الولايات المتحدة على أن أكثر من نصف الكمية المتناولة من

-الفا- توكوفيرول يومياً مصدرها الزيوت والدهون ذات المصدر النباتي؛ ويمتلك $d - \alpha - \text{Tocopherol}$ أعلى فعالية حيوية ضمن التوكوفرولات، وهو عادة أكثر انتشاراً. ان وجود التوكوفيرول في الخضراوات الورقية والحليب والزبد وصفار البيض والزيوت النباتية مهما لتغذية الانسان.

وفي الحيوانات يكون الكبد والقلب والكلى مصادر غنية به. كما تخزن كميات لا يستهان بها في شحوم الجسم، وتبعاً لمحتواها من التوكوفيرول تكتسب هذه الشحوم حماية ضد التلف الناتج عن الأكسدة الذاتية عند تخزينها.

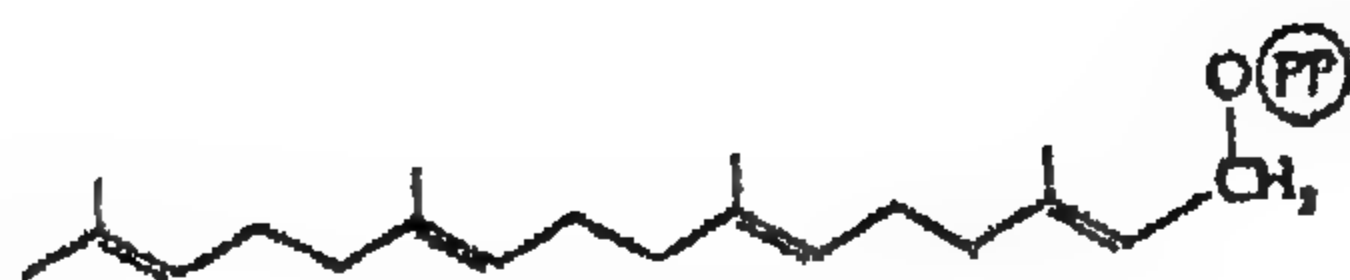
1-5-3-3 التخليق الكيميائي الحيوي

تستخدم النباتات المركب Chorismate (أحد المركبات الوسيطة في تخليق التيروسين والفنيل النين) مصدراً لتخليق الهوموجنتيسات Homogentisate وهي ناتج طبيعي في أيض التيروسين في الثدييات.

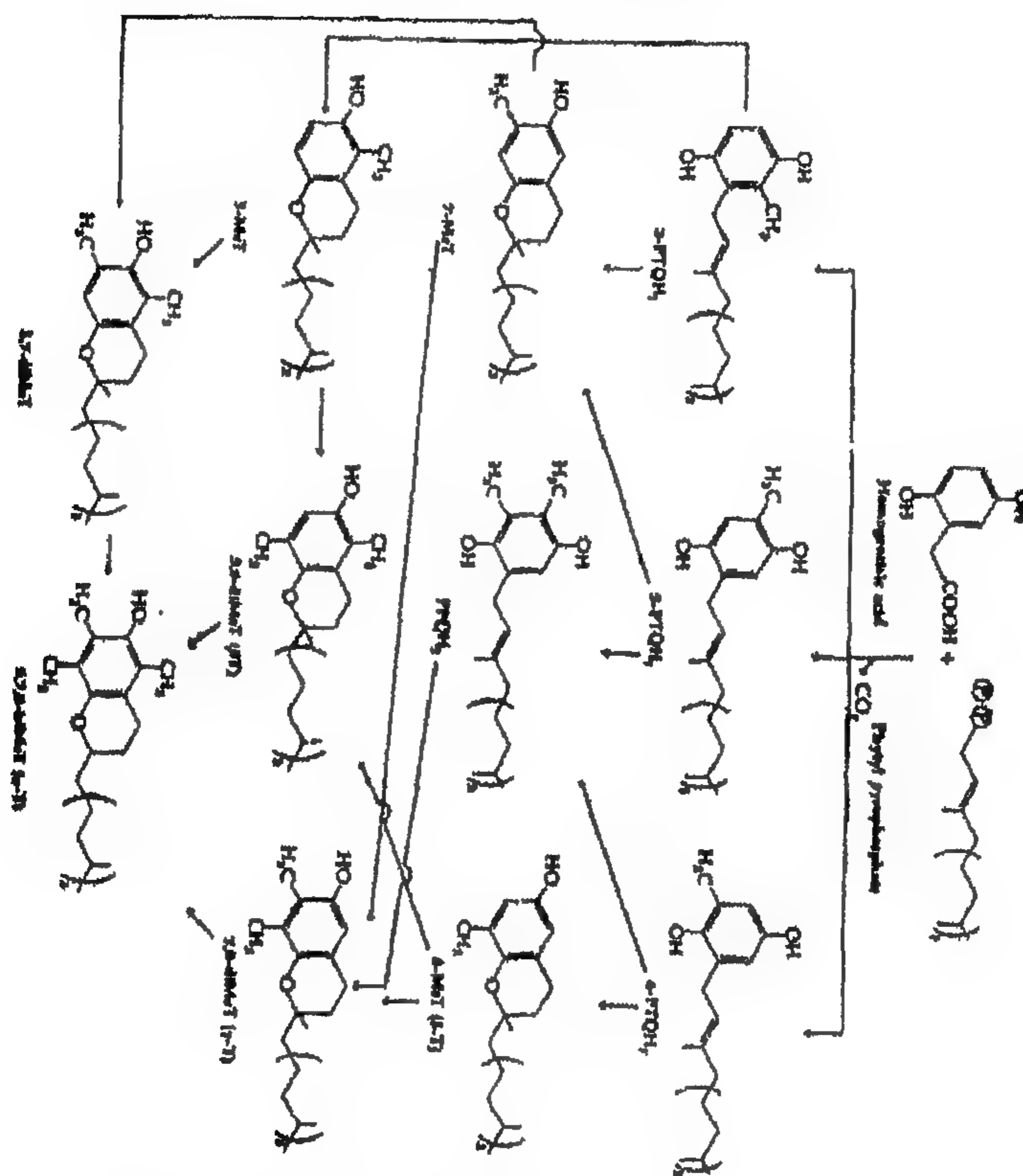


تقترن الهوموجينيسات مع بيروفسفات الفايثيل phytyl pyrophosphate مع إزالة CO_2 وينتج عن العملية تكوين phytyloluquinols (شكل 1-36). تشتق مجموعتا المثيل الاخرتين من المركب S.Adenosylmethionine كما يمكن اقتران الهوموجنتيسات مع Geranylgeranyl pyrophosphate لتكوين toluquinols حاوية على ثلاث أواصر مزدوجة أخرى في السلسلة الجانبية. وهذه المركبات تؤدي إلى تكوين zocotrienols التي تشابه التوكوفيرولات فيما عدا وجود الأواصر المزدوجة الثلاثة في السلسلة الجانبية وتكون هذه المركبات فعالة

مثل فيتامين E.



Geranylgeranylpyrophosphate



شكل (1-36) المسالك المحتملة لتكوين التوكوفيرولات

Phaseolus vulgaris, في الفاصوليا

Phytyltolquinols = PTQH₂Phytylplastoquinone= PPQH₂,

Methyltolcol= MeT,

Dimethyltolcol= diMeT,

Trimethyltolcol= triMetT,

B. Tocopherol α - Tocopherol = إلخ ... إلخ.

إن الكورزيمات chorismate مركب وسطي مهم في تخليق الأحماض الأمينية الأروماتية وثمانية p-Aminobenzoate الحامض الفوليك والتوكوفيرولات والكوينونات الأخرى لفيتامين k واليويكوينون.

1-5-3-4 تحضير التوكوفيرولات صناعياً

يمكن تحضير التوكوفيرولات بالتركيب الكيميائي كما يمكن استخلاصها من المواد الطبيعية الخام وكمثال من زيت الذرة أو بذور القطن أو فول الصويا. تحتوي هذه الزيوت على 0.02-0.2% فيتامين E التوكوفيرولات غير الالف-توكوفيرول نسبة لا يستهان بها فمثلاً يحتوي زيت بذور القطن على حوالي 60% الفا-توكوفيرول و40% كاما-توكوفيرول، أما زيت فول الصويا فيحتوي على حوالي 20% الفا-توكوفيرول و60% كاما-توكوفيرول و20% دلتا-توكوفيرول.

تحتوي الزيوت النباتية المركزة على النسب التقريبية نفسها للتوكوفيرولات الموجودة في الزيوت الأصلية. إن تحضير زيوت مركزة حاوية على نسبة عالية من الفا-توكوفيرول، ذات أهمية خاصة ذلك لأن الالف-توكوفيرول يمتلك أعلى فعالية فيزيولوجية.

تختلف طرق التصنيع التجاري تبعاً لفعالية نوعية المنتج المرغوب فيه. يمكن تحضير الزيوت المركزة ذات الفعالية الواطئة، بعملية الصوبنة Saponification ويتبع ذلك استخلاص المواد غير القابلة للتصبين. وكبديل لذلك يمكن الاستخلاص بالكحول الساخن ثم إزالة الشحوم بالتجميد في درجات حرارة منخفضة ثم تبخير المذيب للحصول على الزيت المركز.

لقد استخدم التقطير التجزيئي للزيوت النباتية بوصفه طريقة كفؤة وعملية لتحضير التوكوفيرولات المركزة وعند استخدام التقطير التجزيئي مع

الصوبنة أو الاستخلاص، يمكن تحضير مركبات التوكوفيرولات ذات فعالية عالية.

إن الطرق المذكورة أعلاه مناسبة لتركيز التوكوفيرولات من مصادرها الطبيعية وهي لا تغير نسبة الفا- توكوفيرول / التوكوفيرولات الأخرى، ولتحضير مركبات عالية بنسبة محتواها من الفا- توكوفيرول تستخدم طرق أخرى وكمثال يمكن استخدام كروماتوكرافيا الامتزاز لتحضير التوكوفيرولات المختلفة بصورة نقية تقريبا كما أنه يمكن تحويل أحادي وثنائي مثيل التوكوفيرول إلى ثلاثي مثيل التوكوفيرول (الفا- توكوفيرول).

غالباً ما تعرض مركبات التوكوفيرول إلى معاملات كيميائية أخرى لتحويلها إلى صيغ أخرى مرغوب فيها اقتصادياً وكمثال تكون استرات الاستات ثابتة جداً تجاه الأكسدة الهوائية تحت معظم الظروف.

1-5-3-5 تعيين التوكوفيرولات في الأغذية

يتم تعيين فيتامين E بايولوجياً باختبار العقم وإعادة امتصاص الجنين Resorption Sterility test والذي يعتمد على حقيقة عدم مقدرة الفأر- الذي يعاني من نقص فيتامين E على حمل الجنين للفترة المحددة للحمل وإنما يعيد امتصاصه (أي الجنين) بعد فترة قصيرة.

يعطي اختبار الانحلال الدموي Hemolysis قياساً دقيقاً لفعالية فيتامين E وأساس هذا الاختبار الميل الكبير للإنحلال الدموي لكريات الدم الحمراء للحيوانات المصابة بنقص فيتامين E لا توجد تفاعلات نوعية للتعيين الكيميائي للتوكوفيرولات ويتم عادة فصل التوكوفيرولات بعناية وتحريرها من المواد المتداخلة ثم تعزل التوكوفيرولات المختلفة بالكروماتوكرافيا. يتم تعيين التوكوفيرولات بطرق Emmerie وEngel حيث يختزل الحديد ثلاثي التكافؤ Fe III إلى حديد ثنائي التكافؤ Fe II بوجود التوكوفيرولات. ثم يتم تفاعل Fe

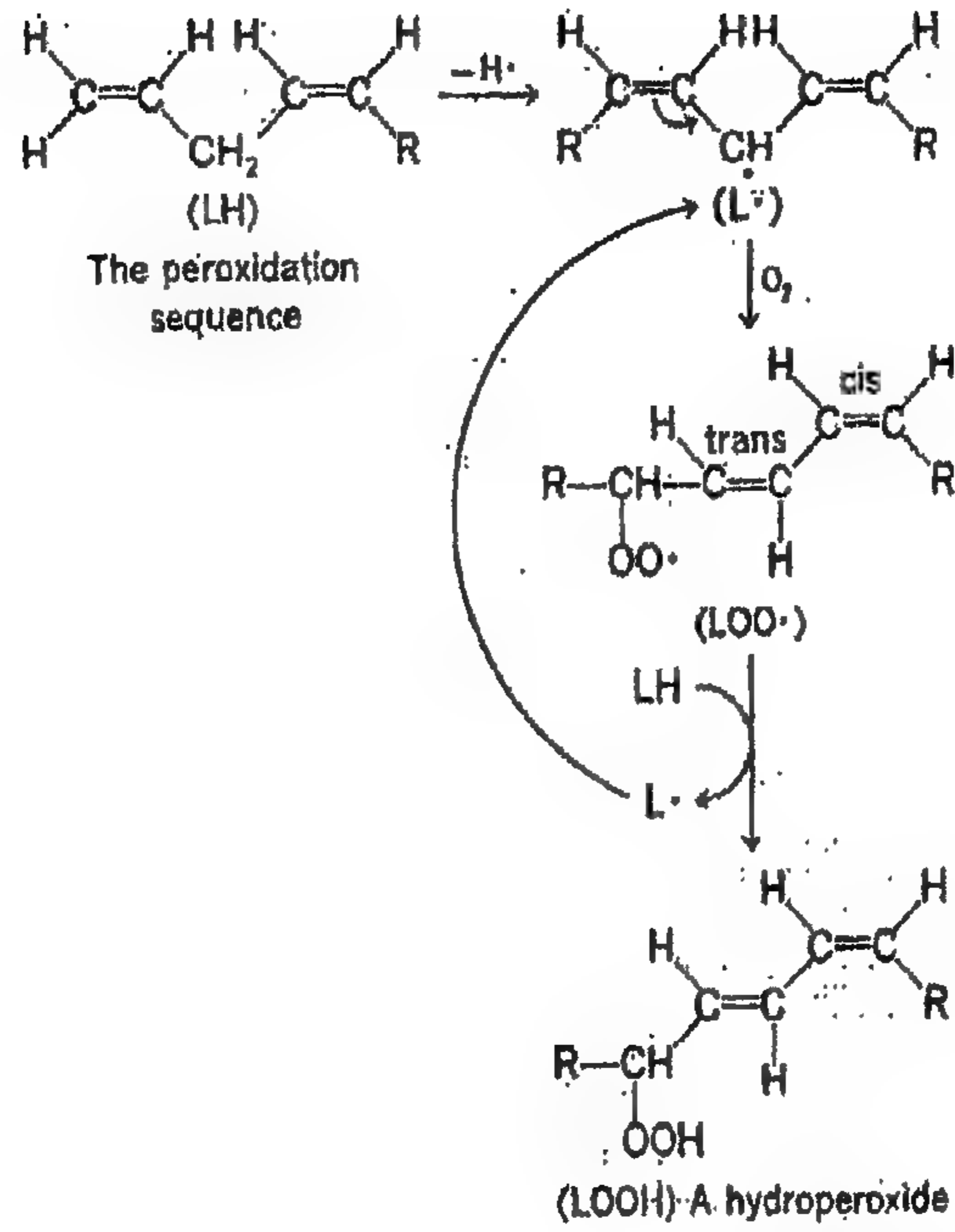
II مع α_1 -dipyridyl لإعطاء معقد احمر غامق يمكن قياس انطفائيته Extinction بالمطياف وتقارن بمنحني عياري Standard curve. ومن الطرق الفيزيائية المستخدمة لتعيين التوكوفيرولات قياس التآلق Fluorometric methods أو بالقياسات البولاروغرافية.

1-5-3-6 تأثيرات التوكوفيرولات المضادة للأكسدة

التوكوفيرولات فعالة في الزجاج In Vitro بوصفها مضادات لأكسدة الدهون والزيوت وتحضيرات فيتامين A، ولقد استخدمت على نطاق واسع لضمان ثبوتيتها ضد الأكسدة (تضاف بنسبة 0.01-0.1%).

تؤدي الكميات القليلة من حامض الستريك والأحماض الأمينية إلى موازنة عمل التوكوفيرولات وتعود الفعالية العالية للتوكوفيرولات الخام كمضادات للأكسدة إلى وجود الموازرات الطبيعية Natural synergists. لقد اقترح بأن الفعالية الحيوية للتوكوفيرول تكمن في قدرته على حماية أنظمة المايكوندريا في التثبيط غير العكوس بيروكسيدات الشحوم.

ان المايكوندريا المحضرة من حيوانات ذات نقص فيتامين E، تظهر اضمحلالاً في الفعالية بسبب البرأكسدة Peroxidation للحموض الدهنية غير المشبعة والتي توجد عادة في هذه العضيات:



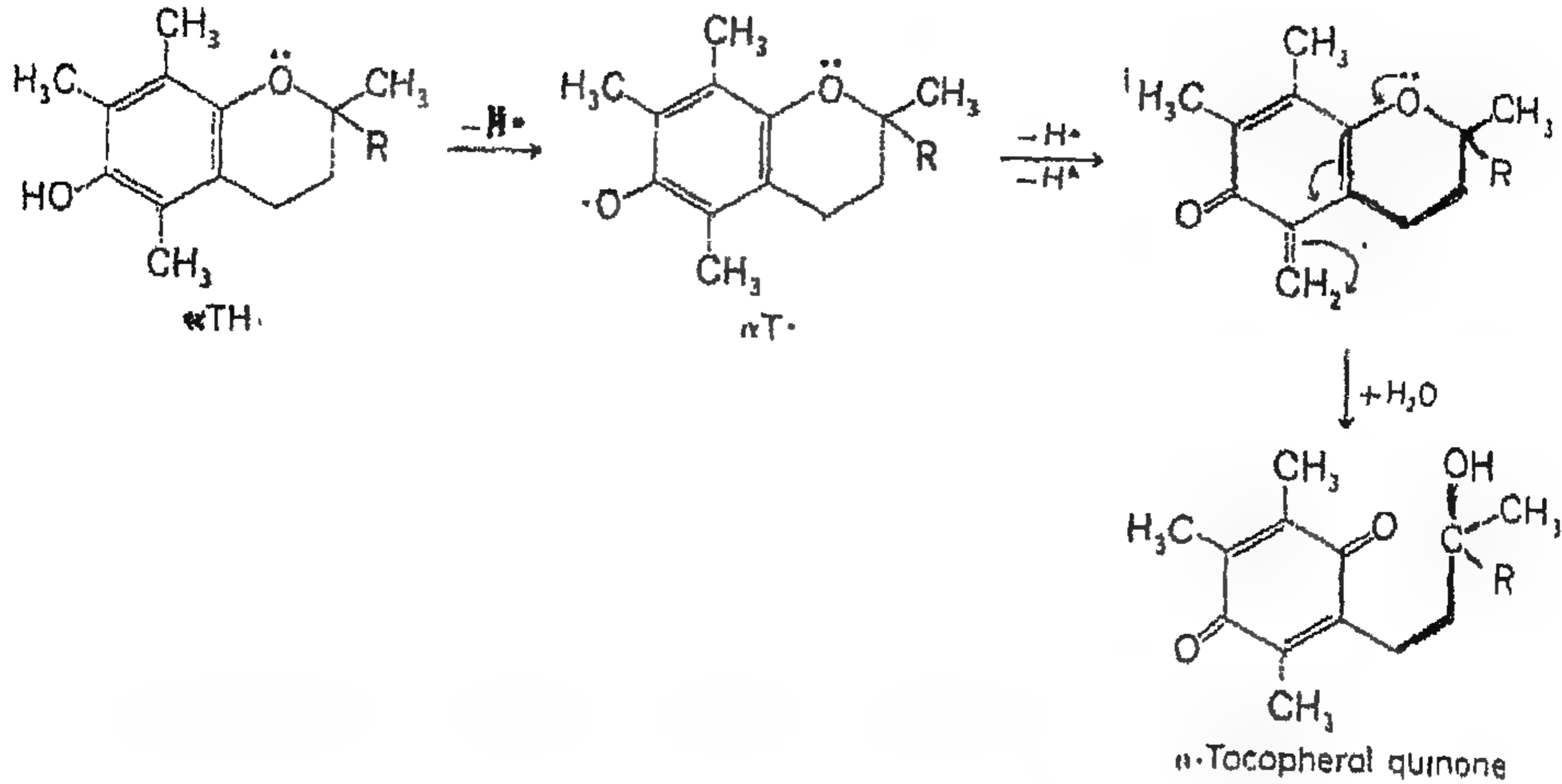
يكسر الفا-توكوفيرول سلسلة التفاعلات بإسهماء في التفاعلات

الآتية:



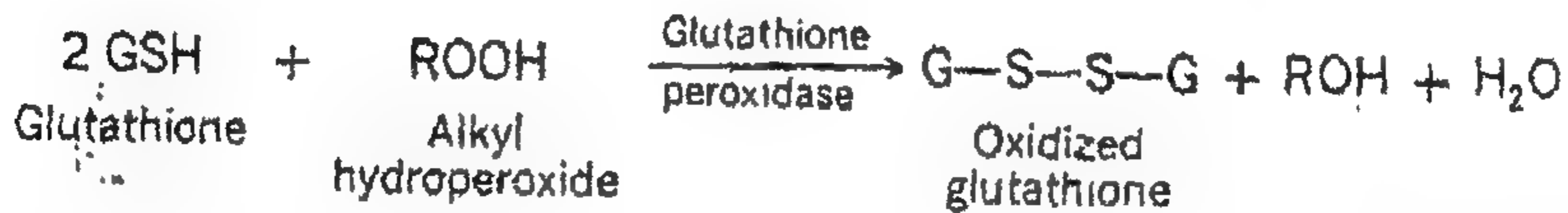
يمكن أن يتحول الفا-توكوفيرول كيميائياً إلى الفا-توكوفيرول

كوينون:



وهكذا يؤدي الفا-توكوفيرول إلى كسر تفاعلات الجذور وبهذا يشبط البرأكسدة peroxidation المتلفة للأحماض الدهنية الحاوية على أكثر من آصرة مزدوجة والتي تقتنر دائماً بشحوم المايوتوكونديريا.

لاحظ علماء التغذية عدة سنوات تشابها شديداً بين التأثيرات الغذائية للالفا-توكوفيرول والكميات القليلة للسليونيوم Selenium (0.05 أجزاء في المليون في اليوم الواحد). ومن المعروف الآن بأن السليونيوم أحد المكونات الجوهرية للأنزيم Glutathione peroxidase الذي يكسح مركبات الهيدروبيروكسي السامة في الأنسجة بالتفاعل الآتي:-



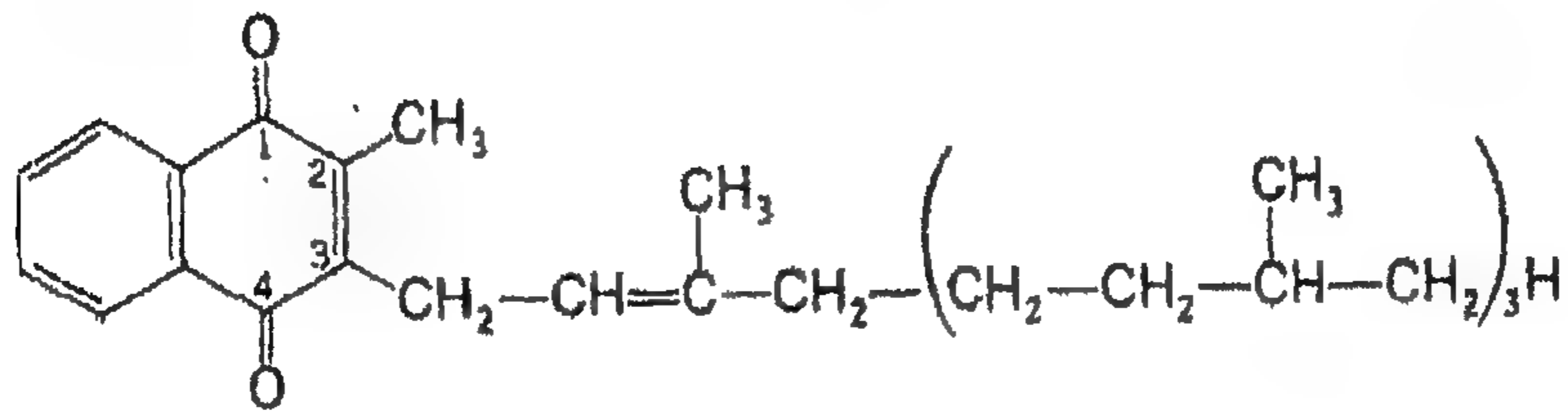
وهكذا يمتلك الإنسان خطين للدفاع ضد مركبات الهيدروبيروكسيد السامة:

(أ) الفا-توكوفيرول الذي يمنع جزئياً تكوين هذه المركبات.

(ب) Glutathione peroxidase الذي يحول الهيدروبيروكسيدات السامة (المتأولة أو المتكونة داخل الجسم) إلى كحولات ثانوية وأولية غير مؤذية.

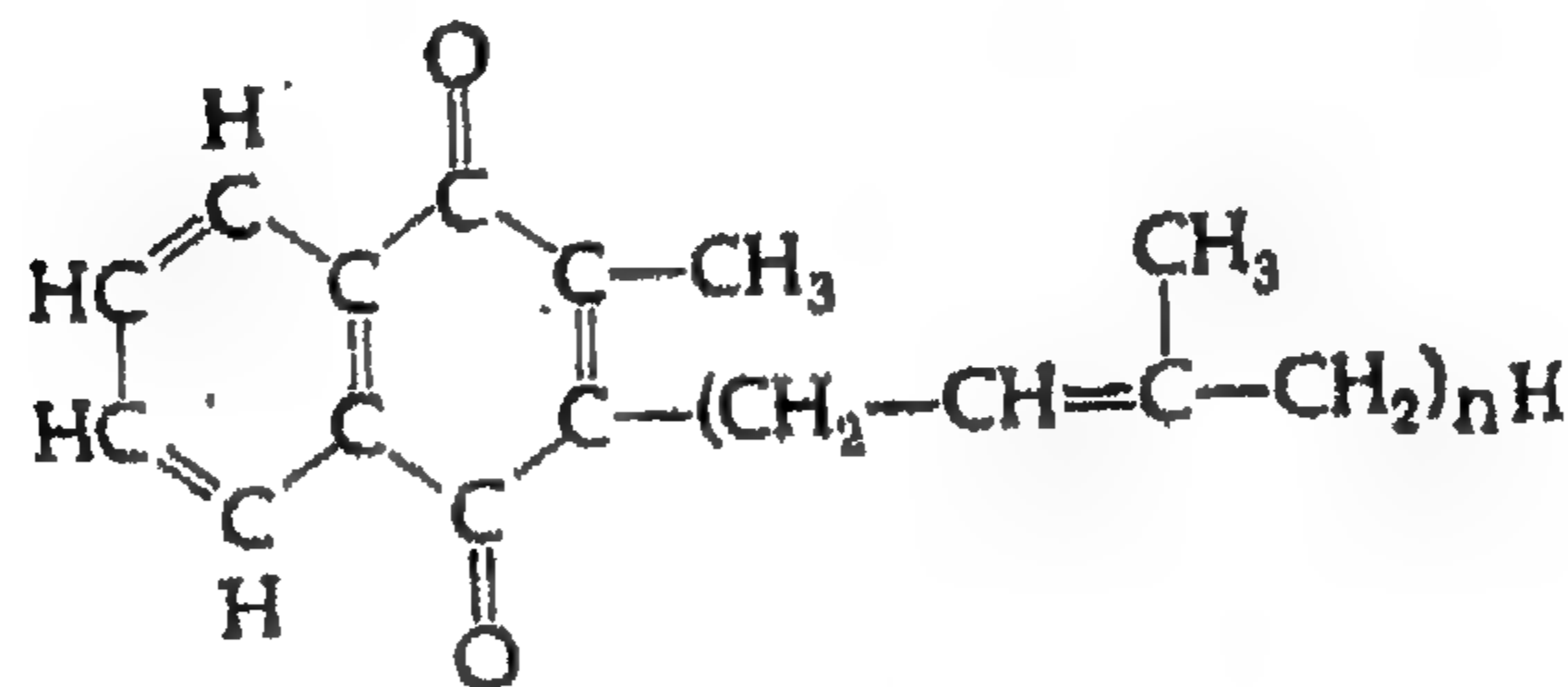
1-5-4 مجموعة فيتامين k

تعد فيتامينات k مشتقات للنفتوكوينون Naphthoquinone ولقد تم عزل فيتامين k لأول مرة من الجت Alfalfa وتتكون سلسلة الفايثيل phytyl الجانبية من أربع وحدات ايزوبرين ثلاث منها مهدرجة.



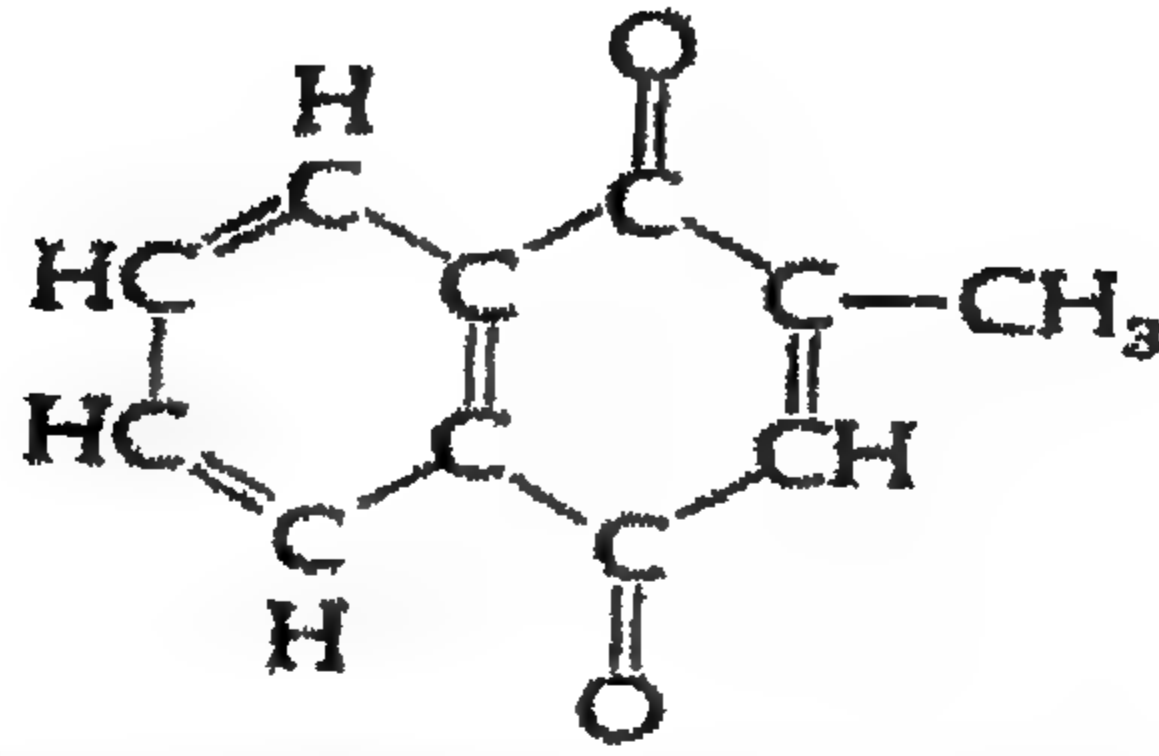
vitamin K₁

تحتوي سلسلة فيتامينات k₂ من 6 إلى 9 وحدات ايزوبرين في السلسلة الجانبية ولقد امكن عزل فيتامينات k₂ من البكتيريا والأسماك.



Vitamin K₂ series n = 6-9

يمتلك المركب ميناديون ويسمى أيضاً مينا كوينون أو 2-مثيل-1، 4-نفتا كوينون Menaquinone، Menadione، 1.4-naphthoquinone، 2-methyl النافثا كوينونية نفسها ويظهر الفعالية نفسها لفيتامين k₁ على أساس التركيز المولاري وربما يعود السبب لسهولة تحوله إلى فيتامين k₁.



Menadione (2-methyl-1,4-naphthoquinone)

1-4-5-1 وجود مجموعة فيتامين K

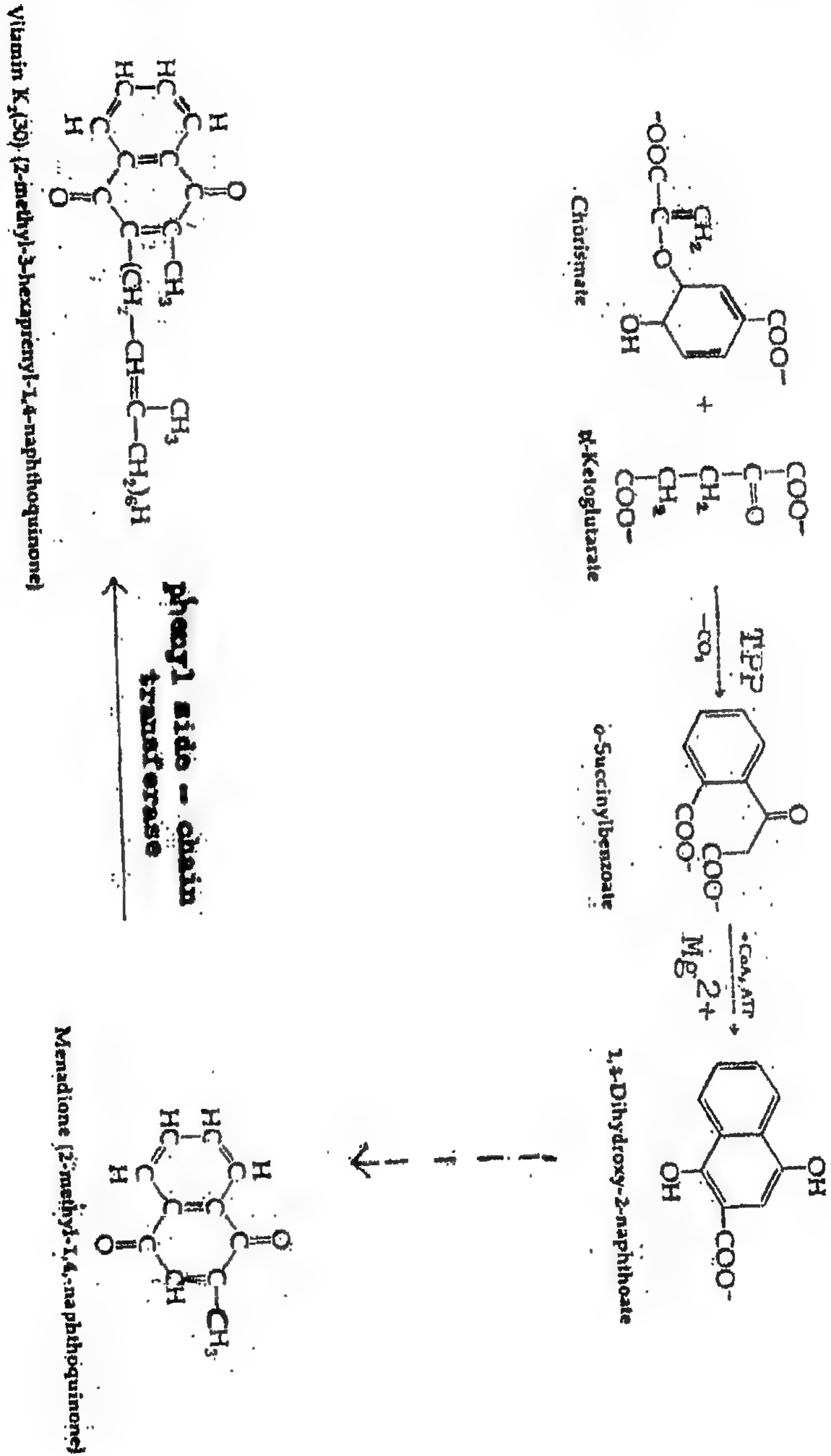
عزل فيتامين K_1 أول مرة من مصدر نباتي وتبقى المصادر النباتية مصدراً جيداً لفيتامين K_1 . فيتامينات K_2 تكونها البكتريا وخصوصاً الموجودة في الأمعاء، ولهذا من الصعوبة ايضاح نقص في فيتامين K في الأصحاء إلا أنه قد يحصل نقص فيه في الحالات التي تتلف فيها هذه البكتريا أو يثبط نموها وكمثال عند تناول المضادات الحيوية لفترة طويلة بصورة خاصة.

1-4-5-2 التخليق الحيوي

يتكون فيتامين K من الكورزومات Carismate التي تمثل الجزيئة السلف لعدة مركبات اروماتية (شكل 1-37). تتفاعل الكورزومات مع Ketoglutarate- \times بوجود Thiamine pyrophosphate (TPP) لتكوين O-Succinylbenzoate. يتحول Succinylbenzoate-O إلى dihydroxynaphthoate خلال مشتق التميمم الأنزيمي A (Coenzyme A). إن إزالة كربوكسيل المركب Naphthoate ثم مثيلته Methylation يعطي الشكل المختزل menadione وتضاف سلسلة البرينيل prenyl بعد ذلك.

عند إطعام Menadione (C_{14}) لحيوان تجريبي. يظهر فيتامين K في الكبد حاوياً على 4 وحدات ايرزوبرين (K_{20}) وكذلك الحال عند زرق الصيغ الأخرى لفيتامين K . وهذا يدل على أن السلاسل الجانبية الأخرى تزال وتثبت

سلسلة حاوية على 20 ذرة كربون في الحلقة. إن الأنزيم المسؤول عن هذا التفاعل هو ذات الأنزيم المسؤول عن إضافة السلسلة الجانبية لليوبكوتينون.



يكون فيتامين K مسؤولاً عن التخثر الطبيعي للدم ولهذا يسمى الفيتامين ضد النزف Antithaemorrhagic ويعمل ناقلاً للهيدروجين في بعض الكائنات في السلسلة التنفسية.

1-5-4-3 تعيين فيتامين K

تستخدم الطرق البايولوجية عادة لتعيينه ولا تستعمل الطرق الكيميائية عادة لأنها تفتقر إلى الخصوصية لوجود الكوينونات المختلفة

1-6 ملاحظات ختامية في تغذية الإنسان

من غير المحتمل اكتشاف متطلبات غذائية جديدة بالطرق الكلاسيكية التي تم بها اكتشاف عوامل الغذاء الجوهرية، ويبقى الاحتمال موجوداً بحاجة الإنسان والحيوانات إلى مركبات إضافية غير معروفة قد تجهزها البكتريا المعوية أو قد تنتقل من الدم إلى الجنين بكميات كافية للحفاظ على النمو وسلامة الصحة من جيل إلى آخر.

إن مراجعة المعلومات المتوافرة حالياً عن الأدوار الأيضية للعوامل الغذائية المختلفة والأمراض الناجمة عن نقصها تكشف عن جهلنا الكثير عن آلية تأثيرها في التفاعلات الأيضية ذات العلاقة. فمثلاً لا يمكن تفسير ظواهر الإسهال والتهاب الجلد والخرف المميزة لمرض البلاكرا بوظائف نيوكليوتيدات البريدين.

وإن التهاب الأعصاب الناجم عن مرض البري بري لا يمكن تفسيره على أساس اضمحلال فعالية الأنزيم pyruvate dehydrogenase. وبالحقيقة فإن إسهام فيتامين A في عملية النظرودور فيتامين K في تكوين أسلاف الفيتامينات Zymogens لأنزيمات تخثر الدم، تمثل أفضل الأمثلة لوظائف الفيتامينات المعروفة تماماً.

7-1 التغذية المثالية

سعى الباحثون زمناً طويلاً إلى تعريف التغذية المثالية أو التغذية الجيدة الموازنة للإنسان. إن هذه العنوانات تبدو حالياً بدون معنى لأن الصحة الجيدة متناغمة مع مدى واسع من المواد الغذائية الأساسية المستهلكة وهي الكربوهيدرات والدهون والبروتينات وأن كميات وموازنة المواد تؤثر في احتياجات الفيتامينات. إضافة إلى ذلك هناك اختلافات كبيرة في الاحتياجات الغذائية الفردية في المدى المسمى بالظروف الطبيعية. يختلف الأفراد بصورة واسعة في احتياجاتهم للسعرات الحرارية اعتماداً على العمر والجنس والمهنة كما يختلفون في قدرتهم على الإنتفاع من المواد الغذائية المتناولة لإنتاج الطاقة نظراً لاختلاف قدرتهم على هضم وامتصاص ونقل أيض المواد المختلفة في الأغذية المتناولة بالسرع القصوى.

يمكن التأكيد هنا بأنه في الوقت الذي لا يمكن تعريف التغذية المثالية. يمكن تحديد الاحتياجات الدنيا الضرورية للصحة الجيدة.

إن الكميات اليومية التي يوصى بها (جدول 1-9-10) يمكن اعتمادها للغالبية العظمى من البشر الذين يستهلكون أصنافاً متنوعة معقولة من المواد الغذائية.

جدول 1-9 كميات الفيتامينات التي يوصى بتناولها يومياً (المصدر 12)

أ.ج	سم	باون	كغم	العمر سنوات	البروتينات	غم	الفيتامينات الذائبة في الدهون			الفيتامينات الذائبة في الماء						
							فيتامين E ملغم TE	فيتامين D Ng	فيتامين A Ng	فيتامين C (ملغم)	Ng Bu	Folacin	B6 (ملغم) NE	نياسين (ملغم)	ريبوفلافين (ملغم)	ثيامين (ملغم)
24	60	13	6	0.5-5.0	الرضع	2.2 × كغم	3	10	420	35	0.5	30	0.3	6	0.4	0.3
28	71	20	9	1.0-0.5		2.0 × كغم	4	10	400	35	1.5	45	0.6	8	0.4	0.5
35	90	29	13	3-1	الأطفال	23	5	10	400	45	2.0	100	0.9	9	0.8	0.7
44	112	44	20	6-4		30	6	10	500	45	3.0	200	1.3	11	1.0	0.9
52	132	62	28	10-7		34	7	10	700	45	3.0	300	1.6	16	1.4	1.2
62	157	9	45	14-11		45	8	10	1000	50	3.0	400	1.8	18	1.6	1.4
69	176	145	66	18-15		56	10	10	1000	60	3.0	400	2.0	18	1.7	1.4
70	177	154	70	22-19		56	10	7.5	1000	60	3.0	400	2.2	19	1.7	1.5
70	178	154	70	50-23		56	10	5	1000	60	3.0	400	2.2	18	1.6	1.4
70	178	154	70	+51		56	10	5	1000	60	3.0	400	2.2	16	1.4	1.4
62	157	101	46	14-11	الإناث	46	8	10	800	50	3.0	400	1.8	15	1.2	1.1
64	163	120	55	18-15		46	8	10	800	60	3.0	400	2.0	14	1.3	1.1
64	163	120	55	22-19		44	8	7.5	800	60	3.0	400	2.0	14	1.3	1.1
64	163	120	55	50-23		44	8	5	800	60	3.0	400	2.0	13	1.2	1.0
64	163	120	55	+50		44	8	5	800	60	3.0	400	2.0	13	1.2	1.0
					الحوامل	30+	2+	5+	200+	20+	1.0+	400+	0.6+	2+	0.3+	0.4+
					المرضعات	20+	3+	5+	400+	40+	1.0+	100+	0.5+	5+	0.5+	0.5+

أ. NE - مكافئ النياسين ويساوي 1 ملغم نياسين أو 60 ملغم تريتوفان غذائي.

ب. المقصود بالفولاسين Folacin المصادر الغذائية المعينة باستخدام البكتيريا بعد المعاملة بالأنزيمات لجعل صيغ polyglutamyl للفيتامين في متناول البكتيريا المستخدمة في طريقة التحديد.

ج. RE = مكافئ الريتول، كل مكافئ ريتول يعادل 1 (mg) في الريتول أو (mg) من B - Carotene.

د. بمثابة 10 Mg كوليكالسفيرول = 400 وحدة عالية من فيتامين D.

هـ. ET - α - مكافئات ألفا - توكوفيرا 1 ملغم α - Tocopherol - d = من مكافئات ألفا - توكوفيرول.

جدول 1-10 الكميات المقترحة تناولها لبعض الفيتامينات يومياً (المصدر 12)

الفيتامينات		حامض البنتوتيك (ملغم)	العمر (سنوات)	
فيتامين K (Mg)	بيوتين (mg)			
12	35	2	0.5-0.0	الرضع
20-10	50	3	1.0-0.5	
30-15	65	3	3-1	الأطفال
40-20	85	4-3	6-4	
60-30	120	5-4	10-7	
50-100	100-200	4-7	+11	المراهقون
70-140	100-200	4-7		البالغون

9-1 المصادر المعتمدة

1. Heimann W. & theimann A. Mechanisms der Wirkung and der Enzymatischen Zerstorugn der Acorbinsaure, Wissenschaftliche Veroffentlichungin der Deutschen Gesellschaft fur Ernahrung, Ascorbinsaure Band 14, 1964.
2. The association of vitamin chemists, Incarporation Methods of Vitaimin Assay, 3rd edn. Interscience Publishers New york and London, 1967.
3. Sebrell Jr W.H. & Robert S.H The Vitamins. Chemistry physiology, pathology, Methods. Vel I, 2nd edn. Academic press New york and London, 1967.
4. Sebrell Jr. W.H & Harris, R.S. The Vitamins:
5. chemistry, physiology, pathology, Methods. Vol V, 2nd edn, Acdemistry press, New York and London, 1972.
6. Whitaker J. R. Principles of Enzymology for the Food Sciences.
7. Marcel dekker Inc. New York and Basel, 1972.
8. Finar I.L Organic chemistry, Vol, 2, 5th end, Longman group Ltd, London, 1975.
9. Conn E.E and Stumpf P.K Outlines of Biochemistry 4th edn. John Wiley and Sons, Singapre, 1976.

- 10.Bruchmann B., Angewandte Biochemie Velag Eugen Eugen Ulmer, 1975.
- 11.Heimann W. Translater Morton C.Translation editors Morton, I & Scot, R. Fundamentals of Food Chemistry, Ellis Horwood Ltd Avipublishing Company, West port, USA, 1980.
- 12.Rawn J.D. Biochemistry, Harper and Row publishers, New York, 1983.
- 13.Smith E.L. Hill, R.L. Lehman. I.R. Lefkowitz R.J. Handler,p and white, A. principles of Biochemistry:General Aspects. 7th edn. Mc Graw, Hill Bool Company, Hamburg, Longdon, Mexico, Tokyo, 1983.
- 14.Smith E.L. Hill, R.L. Lehman I.R. Lefkowitz R.j. Handler. P.& white A. Principles of Biochemistry:
- 15.Mammalian Biochemistry. 7th den. Mc Graw Hill Book Company, Hamburg, London, Mexico, Tokyo, 1983.
- 16.13-Belitz H.D. & Grosh W. Lehrbuch du Lebensmittel- Chemie springer-Verlag, 1985.
- 17.Mitchell, H.S. Rybergen, H.j. Anderson, L & Dibble, M.V. 15 th edn Coopers nutrition in Health and Disease. Lippincott Company, Philadelphia, 1068.

الفصل الثاني

الأنزيمات

الفصل الثاني

الأنزيمات

2-1 علم الأنزيمات:

لعلم الأنزيمات أهمية خاصة في العلوم الفيزيائية والحيوية. والأنزيمات واسعة الانتشار في المواد الحيوية وتشكل التفاعلات التي تحفزها الوحد الحي بأكمله. إن أي تغيير في النمط الطبيعي لأنزيمات كائن حي قد يؤدي إلى نتائج بالغة التأثير فيه .

الأنزيمات محفزات ذات أهمية خاصة للكيميائي الفيزيائي كما إن دراسة آلية التفاعلات الأنزيمية جزء مهم من علم الأنزيمات، ولقد نما هذا العلم خلال السنوات الأخيرة لأهميته في العديد من العلوم وخصوصا الكيمياء الحياتية والكيمياء الفيزيائية وعلم الأحياء المجهرية والوراثة والنبات والحيوان وعلم الأغذية وعلم الأدوية والسموم والباثولوجي والفيزيولوجي والطب والهندسة الكيميائية. ولتطبيقات علم الأنزيمات أهمية كبيرة في الصناعات الغذائية وفي مكافحة الحشرات والحرب الكيميائية والتتظيف الجاف وفي تشخيص الأمراض، كما وتستخدم بمثابة كواشف في بعض التحاليل المختبرية، وكمثال تقدير الكلوكوز باستخدام الأنزيم المؤكسد للكلوكوز إضافة إلى استخدامها للعلاج في بعض الأحيان وكمثال استخدامها لاذابة خثرة الدم في المرضى المصابين بالخثار Thrombosis .

2-2 لمحة تاريخية في علم الأنزيمات

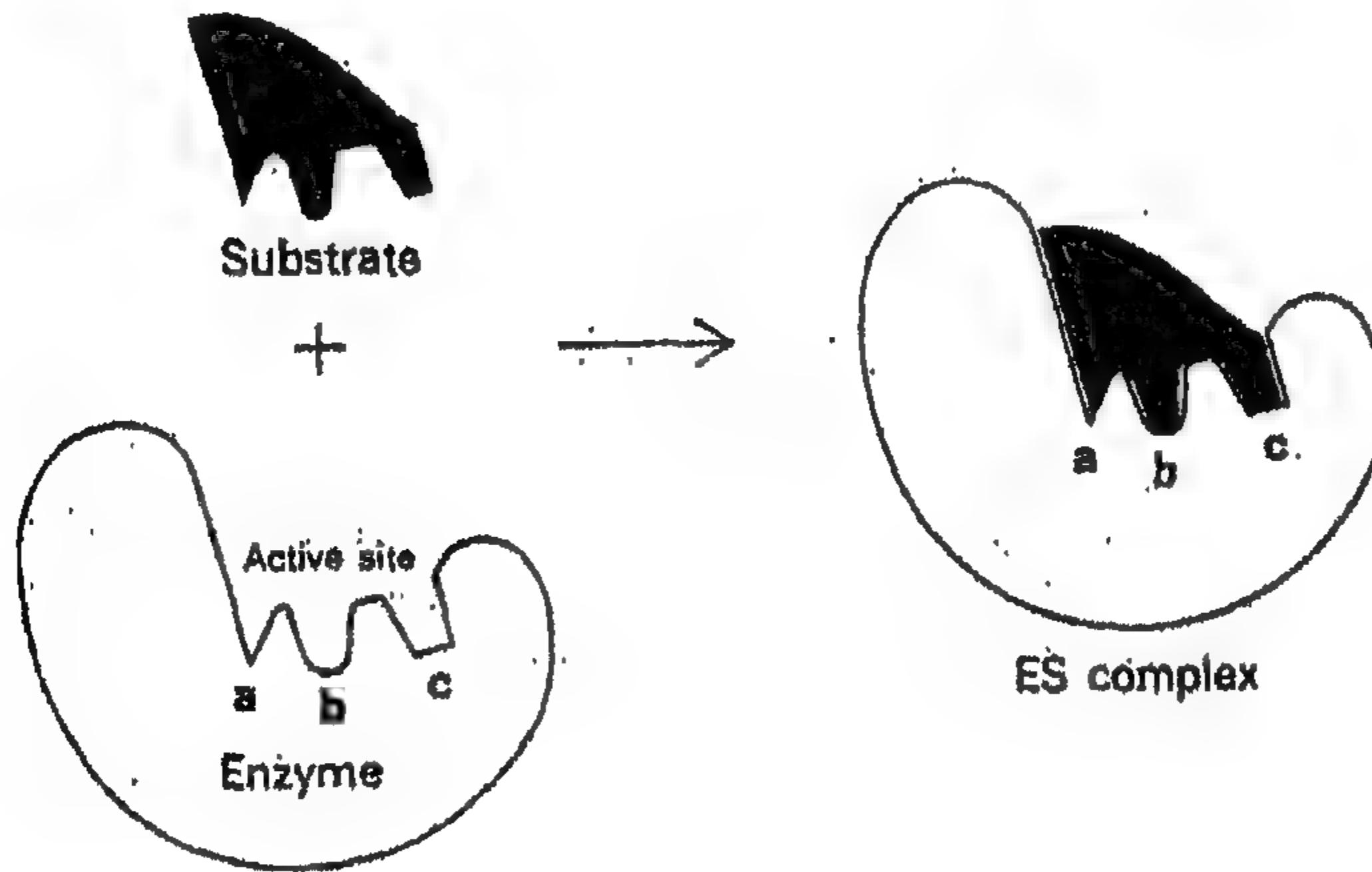
علم الأنزيمات حديث نسبيا ابتدئ به في أوائل القرن التاسع عشر إلا أن التطور الكبير فيه لم يحصل حتى العقود الخمسة الماضية .

لقد عرفت بعض الظواهر مثل التخمر والهضم منذ زمن بعيد إلا أن تمييز الأنزيم لم يتم حتى عام 1833 من قبل Persoz & Payen عندما لاحظا بأن الراسب الناتج عن المعاملة بالكحول لخلاصة الشعير المنبت والمنقع في الماء Malt يحوي مادة تتلف بالحرارة Thermolabile لها القدرة على تحويل النشاء إلى سكر، تسمى هذه المادة الآن Amylase ولقد أسماها مكتشفها Diastase لقدرتها على تكون دكستريانات Dextrins ذائبة من الأغلفة غير الذائبة لحبيبات النشاء .

وعند منتصف القرن التاسع عشر معرفة بعض الأنزيمات مثل الببسين pepsin و polyphenol oxidase و peroxidase و Invertase وفي عام 1855 وصف Schoenbino أنزيم peroxidase في النباتات يؤدي إلى تحول محلول صمغ الكويك Gum guaiac من اللون الأزرق إلى البني عند وجود بروكسيد الهيدروجين . وفي عام 1856 أشار Achenbach إلى أنزيم آخر polyphenol Oxidase في الفطر يعمل بوجود الأوكسجين الجزيئي على أكسدة بعض المركبات . وكما اكتشف Berthelot عام 1860 أنزيم في الخميرة سمي Invertase لقدرته على تغيير اتجاه التدوير البصري لمحلول السكروز بتحليله مائيا إلى كلوكوز وفركتوز ، وأعقب ذلك اكتشاف العديد من الأنزيمات الأخرى في النصف الثاني من القرن التاسع عشر . وفي عام 1878 أطلق Kuhne اسم Enzyme (بالاغريقية في الخميرة) وأشار إلى أن هذه التسمية لاتحدد بالمادة (-Invertase) الموجودة في الخميرة فحسب وإنما تشمل ما موجود في كائنات أخرى مثل أنزيم الببسين والتريسين . ولقد نجح Buchner عام 1897 في الحصول على مستخلص من الخميرة له القدرة على التخمر Fermentation

بمعزل من الخلية الحية وبذلك توصل إلى حل النزاع القائم بين Justus Liebig و Louis Pasteur إذا اعتقد الأول بأن التخمرات والعمليات المشابهة تحصل نتيجة لفعل مواد كيميائية بينما اصرر باستور وجماعته على أن التخمر لا يمكن أن يتم دون وجود خلايا حية.

ولقد كان للكيميائي الألماني Emil Fischer دور كبير في فهم آلية التفاعلات الأنزيمية فلقد أعلن فرضية القفل والمفتاح Lock and Key عام 1984 لتأثر الأنزيم وركيزته Substrate والتي تفسر الخصوصية الأنزيمية Enzyme- specificity والعلاقة الفراغية الوطيدة بين الأنزيم والركيزة (شكل 1-2).



شكل 1-2 مخطط لتمثيل فرضية القفل والمفتاح للعالم Emil Fisher والتي تصف تأثير الأنزيم والركيزة لتكوين معقد (أنزيم ركيزة)

نصت فرضية فيشر على ضرورة توافق السمات السطحية للأنزيم والركيزة لتكوين معقد. "أنزيم- ركيزة" وهذا يشير ضمناً إلى أن الأنزيم يستطيع الارتباط بعدد محدود من الركائز وبعبارة أخرى لكل أنزيم خصوصية Specificity للركيزة.

ولقد شهدت بداية القرن العشرين تطور الطرق الكمية لتقدير الفعالية الأنزيمية وتنقية بعض الأنزيمات وفي عام 1902 اقترح كل من Brown , Henri بصورة مستقلة بأن منحني التشبع Ssturation curve الذي يصف العلاقة بين سرعة التفاعل الأنزيمي وكمية الركيزة المضافة إلى كمية ثابتة من الأنزيم (شكل 2-2) ناتج عن تكوين مركب وسطي وهو مقعد الأنزيم- الركيزة. وفي عام 1913 اشتق Michaelis و Menten معادلتها المشهورة التي تصف كميًا منحني التشبع أعلاه.

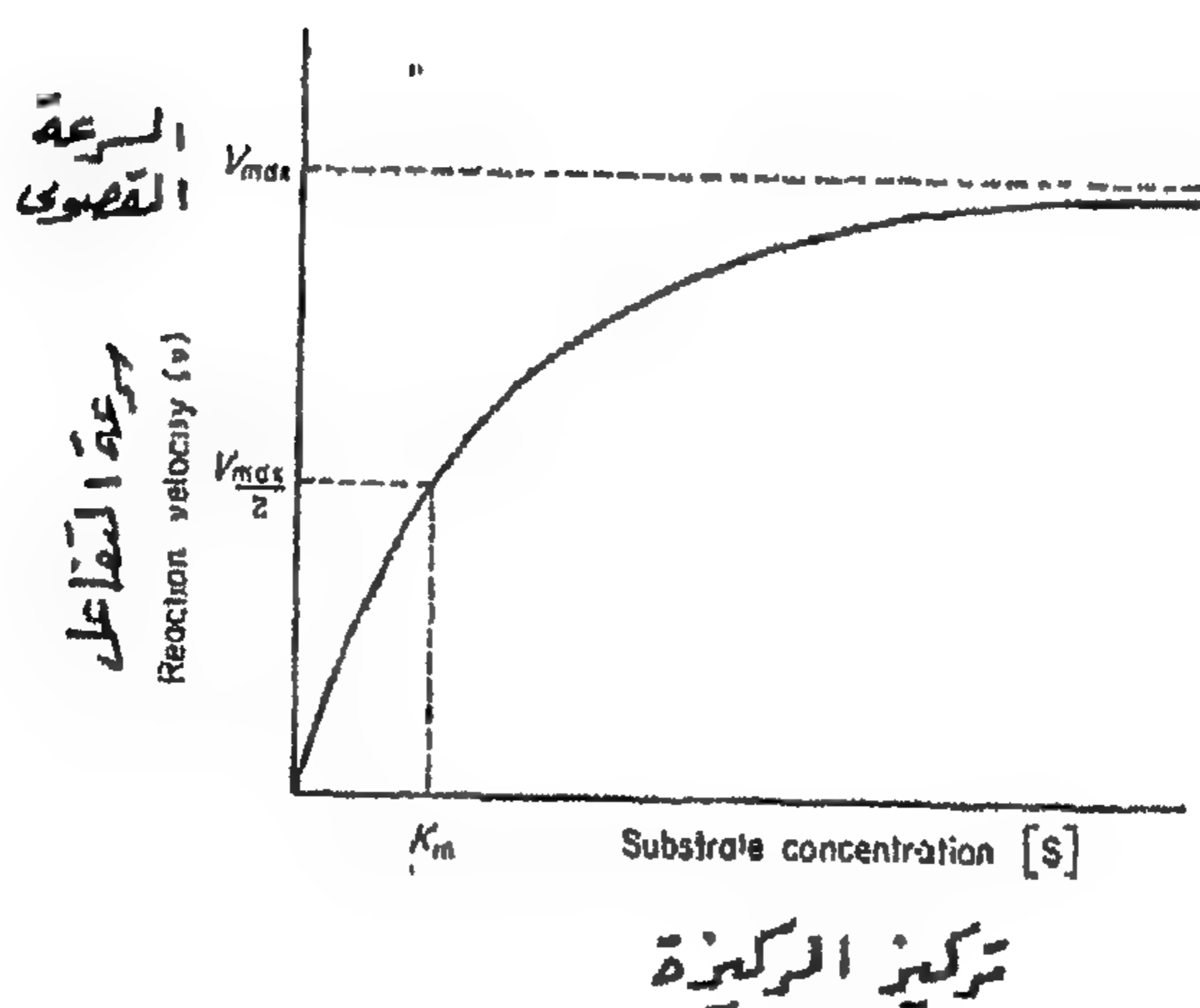
$$V = \frac{V_{\max} (s)}{K_m + (s)} \quad (1)$$

V = السرعة الأولية للتفاعل

V_{\max} = السرعة القصوى وتحصل عند تشبع الأنزيم بالركيزة

(S) = تركيز الركيزة

K_m = تركيز الركيزة عندما تكون $0.5V_{\max} = V$



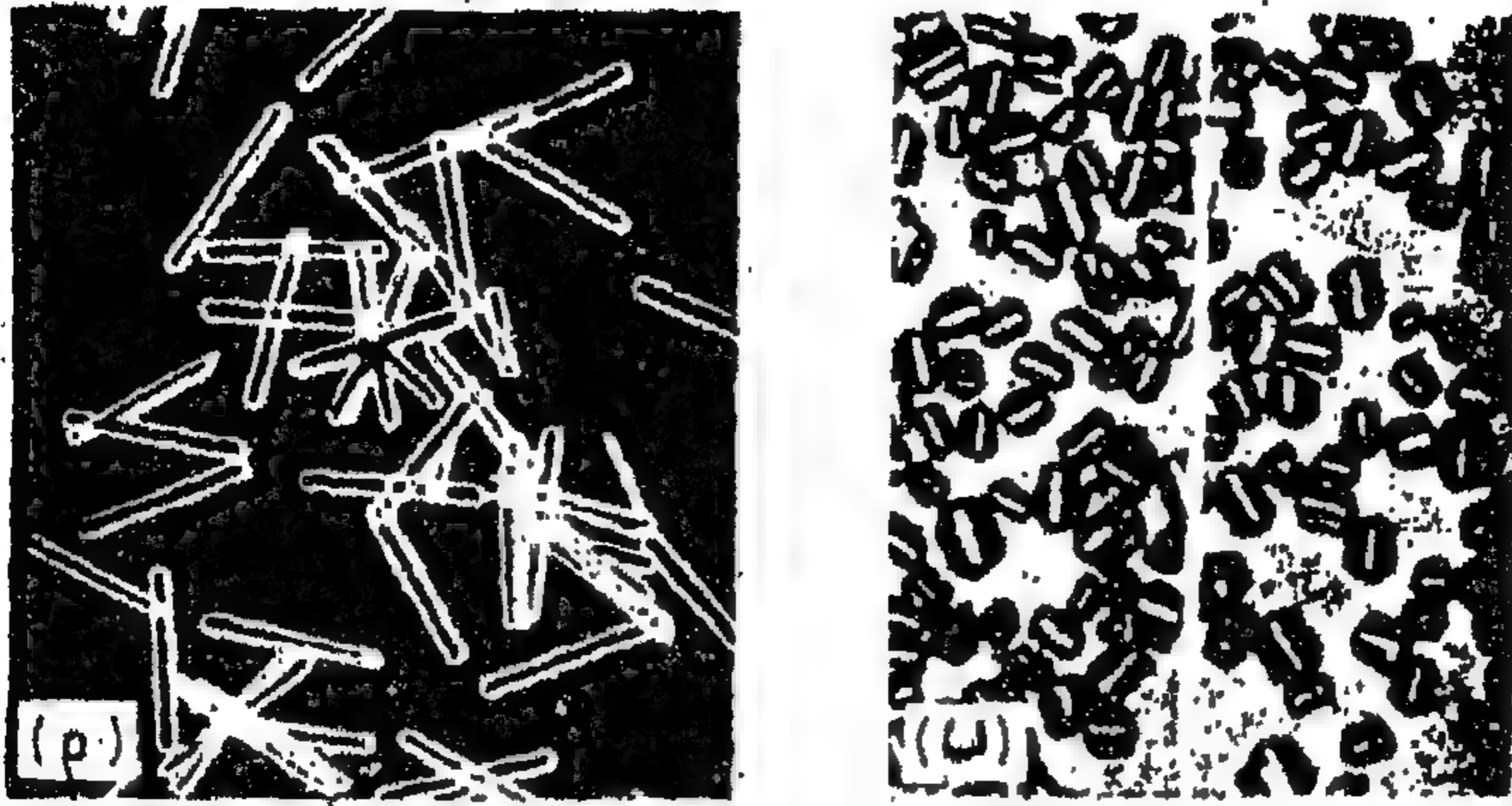
شكل 2-2 العلاقة بين تركيز الركيزة (S) والسرعة الأولية للتفاعل v للتفاعل الأنزيمي

عندما يكون $K_m = (S)$ عندئذ $v = \frac{1}{2} V_{\max}$

بدأت تنقية الأنزيمات بعد عام 1920 وكان willstatter وجماعته الرائدون الأوائل في الفترة 1922-1928 وعلى الرغم من أن التنقية التامة لم تحقق حينئذ إلا أنه أمكن تنقية أنزيم البيروكسداز إلى درجة أن الأنزيم المتبقي أظهر فعالية أنزيمية واضحة في تراكيز بروتينية أدنى مما يمكن تحسسها مما حدا بـ Willstatter إلى الاعتقاد بأن الأنزيمات ليست بروتينات وبأنه عند وجود الأخيرة فإنها تعمل فقط كحوامل للأنزيمات.

تحققت إحدى أهم الخطوات في تاريخ علم الأنزيمات عام 1926 عندما نجح J.B. Sumner في جامعة Cornell في تنقية الأنزيم يورياز Urease. إلا أن تثمين ما حققه Sumner كان بطيئاً ذلك لأن آراء Willstatter وجماعته سيطرت على حقل الكيمياء الحياتية حينئذ وتبعهم الكثيرون في الاعتقاد بأن الأنزيمات ليست بروتينات وفي عام 1930 عبر الكيميائي الحيوي العبقري J.P.S. Haldane عن رأيه إذ ذكر أنه باستثناء أنزيم اليورياز للعالم Sumner فإن الطبيعة الكيميائية للأنزيمات تكاد تكون مجهولة ولم يقتنع الباحثون آنذاك بحقيقية الطبيعة البروتينية لليورياز حتى عام 1929 ولقد حاز Sumner على جائزة نوبل Nobel بعدئذ لما قدمه لعلم الأنزيمات.

شهدت الأعوام التالية للثلاثينات تقدماً كبيراً في تنقية الأنزيمات وخصوصاً من قبل الفريق Northrop و kunitz و Herriott و Anson في مؤسسة روكفلر Rockefeller إذ تم تنقية بعض الأنزيمات مثل التربسين Trypsin والكيموتريسين Chymotrypsin والكربوكس ببتيداز (Carboxypeptidase A) وفي الوقت الحاضر هناك تقارير تشير إلى بلورة حوالي 200 أنزيماً ويوضح الشكل (2-3) بلورات أنزيمي التربسين والالفا-اميلاز اللعابي (α . Amylase).



شكل 2- 3 صور في المجهر الضوئي لأنزيمات بلورية:

أ. أنزيم التريسين Trypsin المستخلص من البنكرياس

ب. ألفا - أميلاز α - Amylase اللعابي

ولقد تقدم علم الأنزيمات تقدما ملحوظا منذ عام 1940 بحيث أصبح من الصعوبة بمكان ذكر جميع من أسهم في هذا المجال إلا أنه لا يمكن إنهاء هذه اللوحة التاريخية الوجيزة دون ذكر فرضية كوشلاند Koshland عام 1959 المسماة التوافق المحرض Induced fit والتي وصفت ارتباط الأنزيم بالركيزة. فعلى الرغم من أنها احتفظت بفرضية تكوين معقد ذي خصوصية فراغية Stereospecific بين الأنزيم والركيزة إلا أنها رفضت فكرة موقع نشط Active Site ذي تركيب صلب وشاكلة Configuration متممة للركيزة حتى في غيابها. واقترحت بأن وجود الركيزة بالقرب من الموقع النشط قد يحرض بعض التغيرات فيه بحيث يصبح أكثر ملاءمة للتطابق مع الركيزة إذ تتخذ المجاميع ذات العلاقة بتحول الركيزة إلى ناتج - مواقع مناسبة. إن مرونة الموقع النشط ودرجة تكيفه تختلفان تبعاً للأنزيم.

وكان أول تقدم مفاجيء في تعيين التسلسل الأولي للأحماض الأمينية في البروتينات عام 1955 حينما سجل Sanger وجماعته التسلسل الأولي التام لهورمون الأنسولين Insulin ذي الوزن الجزيئي (6000). ولقد أمكن تعيين

التركيب الأولي لأول أنزيم- الريبونيو كلياز Ribonuclease ذي الوزن الجزيئي 13683- عام 1960 وتلا ذلك عدة أنزيمات بما في ذلك الكيموتريسين واللايسوزيم Lysozyme والتريسين والبابين Papain والكربوكسي بيتيداز A.

تطور الفحص البلوري بالأشعة السينية α - ray crystallography خلال الثلاثينات واستخدم لتعيين التراكيب ثلاثية الأبعاد للبيتيدات. إلا أن مهمة إيجاد التراكيب الأنزيمية اثبتت صعوبة تحقيقها حتى دخول الحاسب الإلكتروني ولم يتم معرفة التركيب ثلاثي الأبعاد لأول أنزيم- الرايبونيو كلياز- حتى عام 1967.

وفي عام 1969 أمكن للمرة الأولى تحضير أنزيم مختبريا على أيدي جماعتين وكان الأنزيم المحضر ريبونيو كلياز Ribonuclease.

صاحب التقدم في الخصائص الفيزيوكيميائية للأنزيمات تطورا المعالجات الحركية للأنظمة الأنزيمية ولقد وصفت حركات الأنزيمات بصورة دقيقة من خلال أعمال

laidler و Alberty و Cleland و Dalziel و Wong و Hanes وغيرهم، إلا أنه لم يتم معالجة حركات التفاعلات الأنزيمية متعددة الركائز أو متعددة الخطوات حتى بعد عام 1960.

2-3 الخصائص العامة للأنزيمات

الأنزيمات بروتينات:

تم تأكيد طبيعة الأنزيم البروتينية بعد عام 1930 وكثيرها من البروتينات، تتأثر الأنزيمات بالعوامل التي تؤدي إلى تمسخ Denaturation البروتينات وكمثال الحرارة والحوامض القوية والقواعد القوية والمعادن الثقيلة والمطهرات Detergents. تعطي الأنزيمات كشوفات موجبة لجميع الاختبارات

النموزجية للبروتينات مثل اختبارات Biuret و Millons و Hopkins – Cole و Sakaguchi الدالة على الأصرة الببتيدية والثايروسين Tyrosine والتريتوفان Tryptophan والارجنين Arginine على التوالي.

ولقد أكدت دراسات الأشعة السينية للبلورات الأنزيمية α - ray Crystallography تكوينها من أحماض أمينية مرتبطة ببعضها بأواصر ببتيدية.

ليست جميع الأنزيمات بروتينات. إذ تم مؤخراً اكتشاف جزئيات حامض نووي ريبي RNA بفعالية أنزيمية. إن هذا الإكتشاف يغير من الرأي السائد بأن جميع الأنزيمات ذات طبيعة بروتينية (للمزيد من التفاصيل راجع المصدر 29).

تحتوي بعض الأنزيمات مكونات غير بروتينية

ينتج عن التحلل المائي لبعض الأنزيمات مزيج من الأحماض الأمينية فقط بينما تعطي أنزيمات أخرى بعد معاملتها مواداً غير بروتينية مثل الكربوهيدرات والفوسفات والشحوم وأيونات المعادن أو جزيئات عضوية صغيرة. يسمى الجزء البروتيني للأنزيم صميم الأنزيم Apoenzyme ذي الوزن الجزيئي (39600) وتميم العامل Cofactor وهو المركب Ferriprotoporphyrin III ذو الوزن الجزيئي 652. لا يمتلك صميم الأنزيم بمفرده فعالية أنزيمية وكذلك الحال مع تميم العامل Ferriproto porphyrin III الذي يعزى له 0.001% من فعالية الأنزيم الأصلية. ويمكن ربط صميم الأنزيم بتميم العامل لتكوين الأنزيم التام Holoenzyme الذي يستعيد الفعالية الأنزيمية كاملة.

الأنزيمات محفزات بروتينية:

المحفز مادة تؤثر في سرعة التفاعلات الكيميائية دون تحويلها إلى ناتج. في الظروف المثالية لا يستهلك المحفز إلا أن هذا لا يصح إلا على الأنزيمات المستقرة Stable تماماً إذ تبقى تراكيزها الفعالة ثابتة خلال التفاعل وينطبق ما جاء أعلاه على بعض المحفزات اللاعضوية دون غيرها فمثلاً يتسمم البوليديوم polladium والبلاتنوم Platinum في بعض التفاعلات المحفزة.

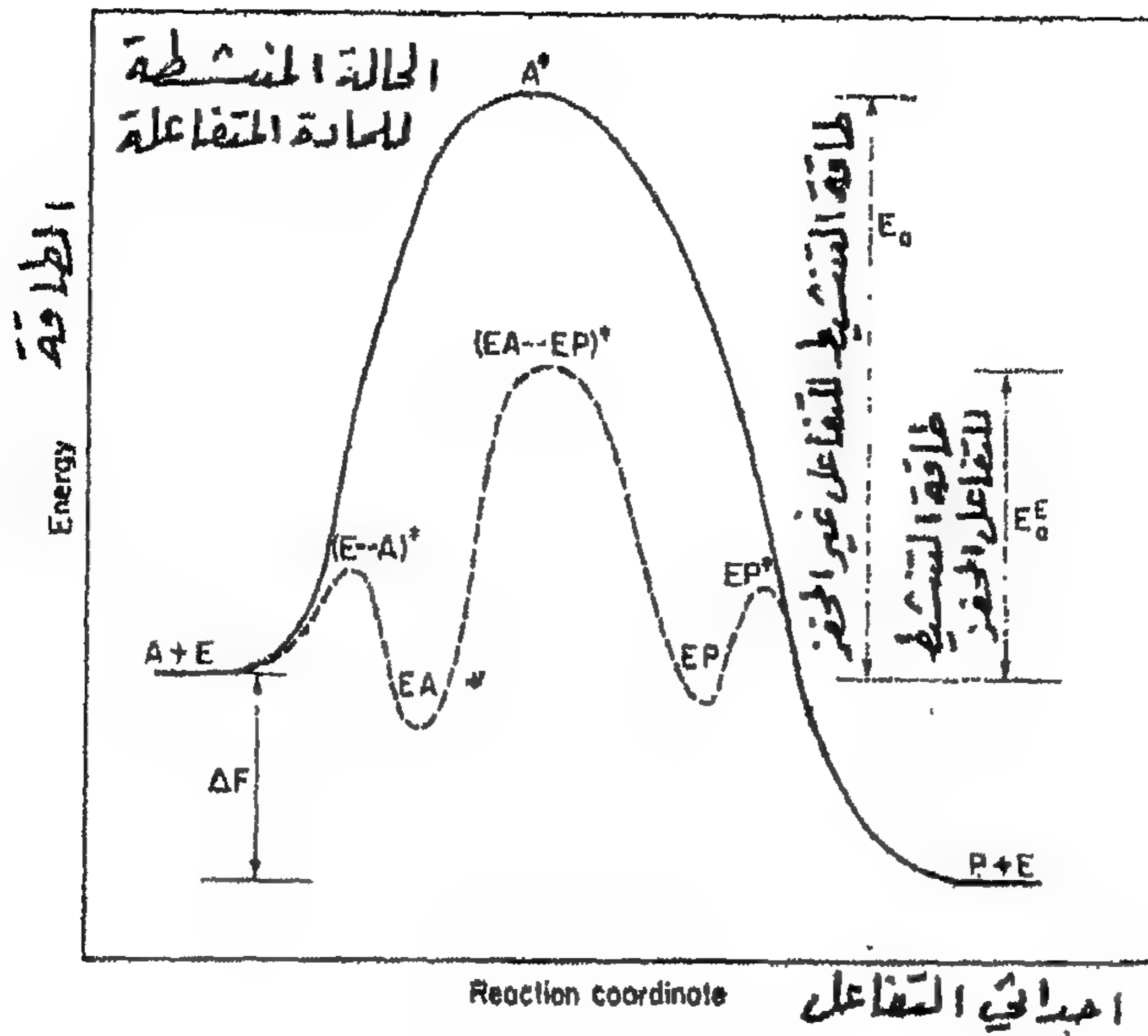
الأنزيمات كغيرها من المحفزات تسرع الوصول إلى حالة الموازنة للتفاعل العكوس Reversible reaction بزيادة ثابتي السرعة للتفاعلين متعاكسي الإتجاه دون تغيير في نسبتهما وهذا يعود إلى خفض طاقة التنشيط (الحاجز الطاقي للتفاعل) للتفاعل المحفز عنها للتفاعل غير المحفز (شكل 2-4)



وهكذا في التفاعل أعلاه تبقى النسبة $\frac{k_1}{k_{-1}}$ ثابتة وبذلك لا يتغير ثابت

التوازن K_{eq} للتفاعل $\left(\frac{k_1}{k_{-1}} = K_{eq} \right)$ ولهذه الخاصية الأنزيمية تتسبب زيادة سرعة

الوصول إلى حالة الموازنة في درجات حرارية اوطأ مما تتطلبه التفاعلات ذاتها فيما لو تمت بدون الأنزيمات.



شكل (2-4) سيماء التفاعل الأنزيمي مقارنة بالتفاعل عبر المحفز. لاحظ بأن الفرق في الطاقة الحرة (AG) بين المادة المتفاعلة (A) والنتج (P) لم يتغير بوجود الأنزيم وبذلك لا يغير التفاعل الأنزيمي ثابت التوازن للتفاعل يمثل EA معقد الأنزيم- الركيزة. Ep، معقد الأنزيم الناتج A+، (E-A)، Ep الحالات المنشطة.

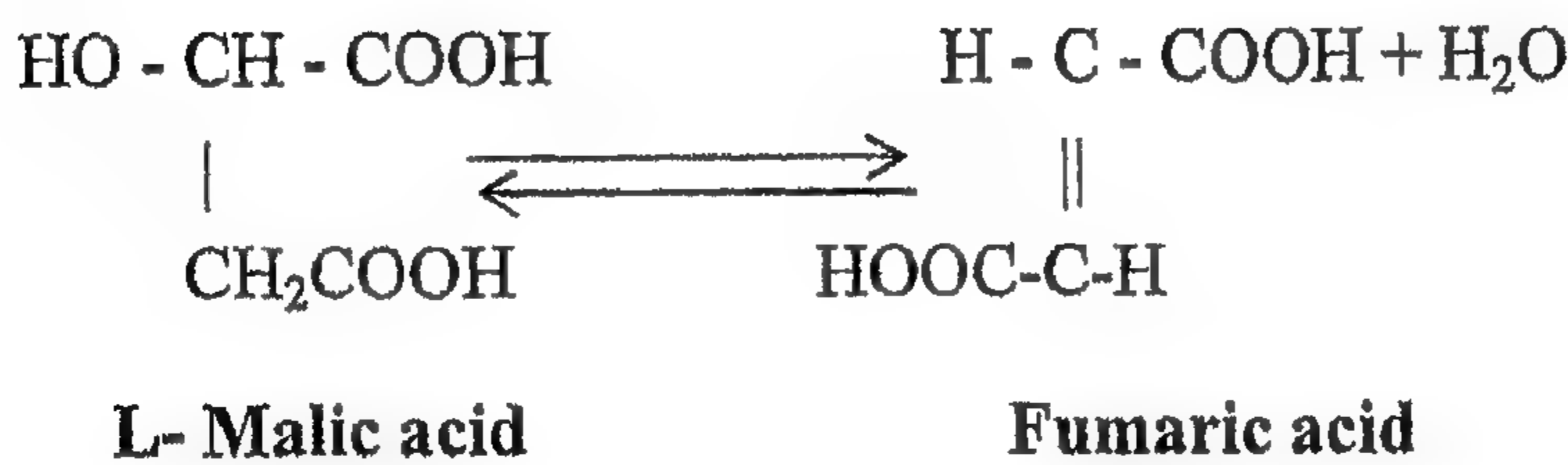
تظهر الأنزيمات تأثيرها بتركيز ضئيلة جدا وتبلغ التراكيز المستخدمة في الزجاج In Vitro $10^{-1} - 10^{-8}$ مولار، إلا أن التراكيز الموضعية للأنزيمات في المنظومات الحية قد تكون أعلى من ذلك بكثير وتقاس كفاءة التحفيز الأنزيمي برقم التحول Turnover number.

يعرض رقم التحويل بعدد مولات الركيزة المتحولة إلى ناتج لكل مول موقع نشط للأنزيم في الثانية (أو في الدقيقة) تحت ظروف يكون فيها الأنزيم مشبعاً بالركيزة. تختلف أرقام التحول للأنزيمات من $10^{-1} - 10^2$ ثانية⁻¹ لأنزيمات التحلل

المائي إلى 10^{-6} - 10^{-7} ثانية لبعض أنزيمات الأكسدة ويكون رقم التحول حالة للرقم الهيدروجيني (PH) ودرجة الحرارة وظروف التفاعل الأخرى.

الأنزيمات محفزات ذات خصوصية عالية تجاه ركائزها

تحفز بعض الأنزيمات تفاعلا واحدا فقط محددًا بطبق Set من المواد المتفاعلة وكمثال التحول بين الفيومارات Fumarate والمالات Malate المحفز بالأنزيم فيوماراز Fumarase



وتسمى أنزيمات من هذا النوع ذات تخصص مطلق.

لا يعمل أنزيم الفيوماراز على الايزومر الفراغي Stereoisomer للفيومارات وهو Maleate ولا على D - Malate.

تكون بعض الأنزيمات أقل خصوصية فمثلا تحفز أنزيمات البروتياز التحلل المائي للأصرة الببتيدية ولكنها تظهر خصوصية تجاه الأواصر التي تكونها الأحماض المختلفة وبذلك تكون هذه الأنزيمات (متخصصة للمجموعة). يحفز أنزيم التريسين Trypsin مثلا التحلل المائي للأواصر الببتيدية التي تساهم بمجموعة الكربوكسيل فيها الأحماض الأمينية القاعدية مثل الأرجنين واللايسين فيما يحلل مائيا أنزيم α - Chymotrypsin الأواصر الببتيدية إذا كان مصدر مجموعة الكربونيل فيها أحد الأحماض الأروماتية L-Tyrosine أو L-

Phenylalaine أو Lysine-L. تظهر أنزيمات البروتياز هذه خصوصية فراغية تامة أيضاً لأنها تعمل فقط على الأواصر الببتيدية الناتجة عن الأحماض الأمينية (L) ولا تهاجم الأواصر الناتجة عن الأحماض (D).

الأنزيمات ذات خصوصية أيضاً لنمو التفاعل المحفز فمثلاً يحفز أنزيم الفيوماراز إماهه Dehydration وإزالة الماء Dehydration من الركائز بينما تحفز أنزيمات البروتياز التحلل المائي للأصرة الببتيدية فقط ولا يمكن أن تحفز نمطا آخر من التفاعلات وكمثال أكسدة واختزال أو إزالة كربوكسيل وما إلى ذلك.

تعزى الخصوصية الأنزيمية إلى ضرورة تكون معقد أنزيم- ركيزة كخطوة أولى في التفاعل المحفز وتتعين الخصوصية بالمتطلبات اللازمة لإرتباط الركيزة في الموقع النشط الأنزيم و (أو) المتطلبات الضرورية لتحول الركيزة- بعد ارتباطها- إلى ناتج وسوف نتوضح الكثير من الأمثلة عند تناولنا للأنزيمات المختلفة.

2-4 التصنيف والتسمية النظامية للأنزيمات

أعطيت الأنزيمات عند أول اكتشافها تسميات معتمدة على أسس مختلفة فمثلاً سمي الأنزيم المكتشف من قبل warbury و Christian عام 1932 والحاوي على الريبوفلافين Riob flavin اسم الأنزيم الأصفر كما سمي أنزيم التحلل المائي للبروتينات papain بهذا الاسم نسبة إلى نوع Species النبات الذي عزل منه Carica Papaya ثم سميت العديد من الأنزيمات باسم الركائز التي تعمل عليها مع إضافة المقطع (ase) فمثلاً Urease يحفز التحلل المائي لليوريا إلى أمونيا CO_2 و phosphatase يحفز التحلل المائي لاسترات الفوسفات وهنا برزت مشكلة أخرى فمثلاً الأنزيمات ببسين وتربسين والفا- كيموتربسين وكربوكسي ببتيداز-A تعمل جميعاً على البروتينات ولهذا تحمل جميعها اسم بروتياز protease ولهذا السبب أعطيت تسميات اعتباطية. وبزيادة عدد الأنزيمات المكتشفة برزت مشاكل عديدة. ولتجنب الفوضى والإلتباس في التسمية وضعت هيئة الأنزيمات 1961 Enzyme Commission معتمدا تقسيم الأنزيمات إلى مجاميع نسبة إلى

نمط التفاعل المحفز وسميت الأنزيمات تبعاً لنمط التفاعلات المحفزة وأسماء الركائز التي تعمل عليها.

2-4-1 قواعد التسمية:

أ- ينتهي اسم الأنزيم بالمقطع (-ase) وهذا ينطبق فقط على الأنزيمات المنفردة ولا يشمل الأنزيمات التي تعمل بتسلسل محدد لتكوين نظام أنزيمي يحفز تفاعلاً اجمالياً وكمثال يضاف المقطع (-ase) إلى نهاية الاسم النظامي للأنزيم المعروف بالاسم الشائع Succinate dehydrogenase والمحفز للتحويل بين السكسنات والفيوماتر بينما لا يعطي للنظام الأنزيمي Succinate oxidase الذي يشتمل على عدة أنزيمات تحفز نقل الإلكترونات من السكسنات إلى الأوكسجين الجزيئي.

ب- تكون المعادلة التي تصف التفاعل الإجمالي المحفز بالأنزيم أساساً للتسمية ولا تؤخذ بنظر الاعتبار المراحل الوسيطة للتفاعل. وعند تحفيز تفاعلات عكوسة يعتمد اتجاه واحد فقط أساساً لتسمية الأنزيمات التي تحفز ذلك النمط من التفاعلات وكمثال تفاعلات الأكسدة والاختزال. يحفز الأنزيم المعروف بالاسم الشائع dehydrogenase Alcohol التفاعل العكسي الآتي:



ويسمى بإسم الركيزة المختزلة وتميم العامل cofactor المؤكسد وبهذا يصبح: NAD oxidoreductase alcohol وهكذا تسمى جميع أنزيمات الأكسدة المرجعة oxidoreductases. ولقد اقترحت اللجنة استخدام NAD أو NADP وليس NAD⁺ أو NAP⁺.

ج- يعطى لكل أنزيم نظام تسمية ذو ثلاث علامات مميزة وهي الإسم النظامي والإسم الشائع والرقم. يتكون الإسم النظامي عادة من جزأين يتكون الأول

من إسم الركييزة (أو الركييزتين وتفصل بنقطتين: للتفاعلات ثنائية الركييزة) والثاني يشير إلى طبيعة التفاعل المحفز (أكسدة وإختزال أو تحلل مائي أو نقل مجموعة...الخ) وينتهي بالمقطع -ase وعندما يشتمل التفاعل الإجمالي على نوعين من التفاعلات وكمثال إزالة المثلل الأكسدية oxidative demethylation، يؤشر على النمط الثاني للتفاعل بمعلومات توضع داخل أقواس وكمثال:

Sarcosine: oxygen oxidoreductase (demethylating)

الإسم الشائع Trivial name :

هو الإسم المستخدم عادة للأنزيم وكمثال يورياز Urease وألفا-أميلاز Amylase و Cellulase و papain و pepsin. وعندما يكون الأنزيم الموضوع الرئيسي لمقالة أو بحث يجب أن يعطى إسمه النظامي ورقمه ومصدره عند أول ذكره فمثلاً الأنزيم المحفز لأكسدة الكحول بوجود NAD^+ يعطى التسمية الآتية: alcohol NAD oxidoreductase (Ec.1.1.11) from yeast وبعد ذلك يضاف الإسم الشائع alcohol dehydrogenase وإذا لم يكن الأنزيم الموضوع الرئيسي في الدراسة عندئذ يكتفى بذكر إسمه الشائع وتم رقم شفرتة داخل أقواس ويكون هذا للمثال أعلاه yeast Alcohol dehydrogenase (Ec. 1.1.1.1).

يأتي رقم الشيفرة Code number مباشرة من نظام التصنيف ويتكون كل رقم شفرة من أربعة أرقام :

الرقم الأول (1 إلى 6) يدل على الصنف الرئيسي الذي ينتمي إليه الأنزيم وهناك ستة أصناف رئيسة وهي :

1. oxidoreductases (أنزيمات الأكسدة المراجعة)
2. Transferases (الأنزيمات الناقلة)
3. Hydrolases (أنزيمات التحلل المائي)

4. Lyases

(أنزيمات اللياز)

5. Isomerases

(أنزيمات الإيزومران)

6. Ligases (synthetases)

(أنزيمات الليكاز أو التخليق)

وسوف نتناول فيما بعد بشيء من التفصيل بعض هذه المجاميع .

يؤشر الرقم الثاني في الشفرة الصنف الثانوي فمثلا لأنزيمات الأكسدة المرجعة يوضح طبيعة المجموعة في المركب الواهب للإلكترونات أو الهيدروجين والتي تعاني أكسدة فمثلا يشير الرقم الثاني 1 إلى مجموعة كحول للتفاعل المحفز بالأنزيم Alcohol dehydrogenase وبذلك يصبح أول رقمين للشفرة (101) ويشير الرقم 2 إلى مجموعة كيتو أو الدهايد (1.2) وللأنزيمات الناقلة يؤشر الرقم الثاني طبيعة المجموعة المنقولة فمثلا مجموعة حاوية على ذرة كربون واحدة (2.1) أو ثمالة Residue كيتونية أو الدهايدية (2.2) أو مجاميع أسيل Acyl (2.3) ولأنزيمات التحلل المائي يشير الرقم الثاني إلى نوع الأصرة التي يتم تحليلها مثلا إستر (3.1) أو كلايكوسيل (3.2) أو بيتيد (3.4) .

وأما الرقم الثالث للشفرة فيؤشر فرع الصنف الثانوي فمثلاً... للصنف الأول Oxidoreductases يؤشر الرقم الثالث نوع المركب المتقبل للإلكترونات أو الهيدروجين فإذا كان NAD أصبح الرقم (1.1.1) وإذا كان Cytochrome يعطي الرقم 3 للأوكسجين الجزيئي (1.1.3) وهكذا للأنزيمات الناقلة، يشير الرقم الثالث إلى الطبيعة الكيميائية للمجموعة المنقولة وكمثال إذا كانت المجموعة الحاوية على ذرة كربون مجموعة مثيل أعطي الأنزيم الناقل لها الرقم (2.1.1) وإذا كانت مجموعة كربوكسيل أصبح الرقم (2.1.3) .

الرقم الرابع في الشفرة هو رقم التسلسل للأنزيم في فرع الصنف الثانوي الذي ينتمي إليه فمثلا Ec 1.1.1.1 يمثل الأنزيم Alcohol dehydrogenase والرقم Ec 1.1.1.2 يمثل الأنزيم Alcohol dehydrogenase (NADP).

$$\text{Alcohol} + \text{NADP}^+ = \text{Aldehyde} + \text{NADPH} + \text{H}^+$$

ويمثل الرقم Ec 1.1.1.3 الأنزيم Homoserine dehydrogenase

$$\text{Homoserine} + \text{NAD}^+ = \text{L-Aspartate } \beta\text{-semialdehyde} + \text{NADPH} + \text{H}^+$$

2-5 أهمية علم الأنزيمات في علم الأغذية :

على الرغم من ممارسة استخدام الأنزيمات على مدى عدة قرون، لتحقيق التغيرات المطلوبة على الأغذية، إلا أن طبيعة المحفزات أو التفاعلات ذات العلاقة، بقيت غير معروفة على وجه الدقة حتى وقت قريب. ومن الأمثلة القديمة لاستخدام الأنزيمات، استعمال الشعير المنبت بالنقع في الماء Malted barley لتحويلات النشاء اللازمة للاختمار. وإضافة اللعاب إلى المنتجات النشوية بهدف تخمرها لتحضير المشروبات الكحولية المقطرة Liquors وتغليف اللحوم بأوراق مخدشة لشجرة اليايا ليسهل مضغها في بادي الأمر، تم دراسة الأنزيمات ذات العلاقة بالهضم والتخمير وتفاعلات التحلل المائي للأغذية وأولى علماء الأغذية عناية خاصة للأنزيمات المسببة للتغيرات المتلفة للأغذية. ومن هذه الأنزيمات، الأنزيمات البكتينية pectic enzymes و polyphenol oxidase ولسوء الحظ لم تعط الأنزيمات المفيدة في التصنيع الغذائي، الأهمية الكافية.

وسوف نتناول فيمايلي أهمية الأنزيمات في الجوانب المختلفة لعلم الأغذية.

2-5-1 دور الأنزيمات في حفظ وتصنيع الأغذية :

تشتمل عملية النمو على عدة تفاعلات أنزيمية مهمة، وتتغير نوع وكمية الأنزيمات باستمرار خلال مراحل التطور والنضج، وتختلف هذه باختلاف نوع العضو والنسيج والخلايا. إن أي خلل في التكوين الأنزيمي يؤدي إلى حالة غير طبيعية وقد تنتج عنها أغذية غير مرغوب فيها. وعند جمع مواد من مصادر حيوية بهدف استخدامها كغذاء، فإن التفاعلات الأنزيمية تستمر فيها حتى تنفذ الركيزة Substrate أو بتغير الرقم الهيدروجيني PH بحيث يصبح غير ملائم للفعالية الأنزيمية. فمثلا أنزيمات دورة كريبس Krebs وسلسلة نقل الإلكترونات Electron transport chain تصبح غير فعالة حالا بعد موت الخلية الحية بسبب عدم توفر الركيزة النهائية "الأوكسجين". وإن أنزيمات تحليل السكر Glycolysis التي تعمل بمعزل عن الأوكسجين، وتستمر في عملها على الكلايكوجين Glycogen والكلوكوز لإنتاج حامض اللاكتيك حتى تنتهي فعاليتها بسبب استهلاك الركائز أو لتغير الرقم الهيدروجيني إلى قيمة غير ملائمة. أما أنزيمات التحلل المائي وهي أنزيمات التحلل المائي للبروتينات Proteases والاسترات Esterases والفسفات العضوية Phosphatases والكلايكوسيدات Glycosidases فإن فعاليتها تستمر على المكونات الخلوية مدة طويلة بعد موت الخلية وفي الواقع فإن فعالية هذه الأنزيمات غالباً ما تزداد بسبب التلف التدريجي للتنظيم الخلوي. ونظراً للتوقف الكبير في تفاعلات البناء Anabolic reactions

بعد موت الخلية واستمرار تعجيل تفاعلات التقويض Catabolic تكون النتيجة تلف النسيج التدريجي. وقد لا يكون هذا التلف سيئاً إذ قد يسهم في نكهة أو صفة مميزة للمادة الغذائية.

إن التفاصيل الدقيقة لتغيرات الفعالية الأنزيمية في معظم الفواكه قيد النضوج، مختلفة عنها في الأنسجة الحيوانية. فعند النضوج تزداد كمية وفعالية

بعض الأنزيمات. كما تزداد سرعة التنفس ويتحول النشاء إلى سكريات ويحصل نكوص degradation للكلوروفيل ويزداد حجم الخلايا بسرعة وتعد جميع هذه التغيرات مفيدة للفواكه بينما يكون نكوص الكلوروفيل في الخضراوات الخضراء، غير مرغوب فيه وبعد نضوج الفاكهة تستمر وتزداد فعالية أنزيمات التحلل المائي وإذا لم يسيطر عليها تصبح الفاكهة شديدة النضوج overripe وطريقة Mushy أما في الفوصوليا الخضراء الطازجة والبازلاء والذرة فإن التفاعلات المحفزة بالأنزيم المؤكسج للشحوم Lipoxxygenase تؤدي إلى فقدان اللون والنكهة .

وللسيطرة على الفعالية الأنزيمية بعد الحصاد، يجب فهم العوامل المؤثرة فيها ومن أهم المتغيرات التي يمكن التعامل معها درجة الحرارة والركيزة. فمثلاً يؤدي الخزن في درجات الحرارة المنخفضة إلى إبطاء سرعة الفعاليات الأنزيمية ويؤخر الوقت الذي تصبح فيه نوعية المنتج غير مقبولة. إلا إن هذا لا يصح لجميع المنتجات الغذائية، فمثلاً عند خزن البطاطا في درجات حرارة عالية نسبياً، يتحلل النشاء مائياً إلى ديكستريانات Dextrins ومالتوز وأخيراً إلى كلوكوز الذي يؤكسد فيما بعد، وهذا يؤدي إلى رخاوة المنتج. أما إذا كانت درجة الحرارة واطئة نسبياً فإن أكسدة الكلوكوز تحصل أبطأ من سرعة تحول النشاء إلى سكريات وتصبح البطاطا حلوة وبدرجة غير مستساغة أن خزن بعض الأغذية في أو بالقرب من الصفر المئوي، قد يؤدي إلى زيادة ملحوظة في الفعالية الأنزيمية وهذا ناتج عن زيادة توفر الركائز للأنزيمات بسبب تركيز الوسط المائي للانسجة بسبب الجفاف أو (و) التلف التام للمكونات الخلوية بسبب البلورات المائية الكبيرة المتكونة عند التجميد البطيء مما يؤدي إلى إذابة بعض الأنزيمات المرتبطة بالأغشية البلازمية. ولهذا يجب أن يتم الخزن فوق الصفر المئوي أو عدة درجات تحته وليس في المدى (صفر - 5 م) إلا إذا توافرت الرغبة لزيادة الفعالية الأنزيمية.

وفي الفواكه. تؤدي أنزيمات الأكسدة الى زيادة ملحوظة في التنفس الخلوي وتؤثر بدء عملية النضوج ويمكن خفض فعالية هذه الأنزيمات بخفض درجة الحرارة وتغيير نسب الأوكسجين و CO_2 والنيتروجين في الجو بحيث تقل نسبة الأوكسجين (التكوين الطبيعي للهواء: 21% أوكسجين، 0.03% CO_2 ، 79% نيتروجين) ويكون ذلك بزيادة نسبة CO_2 والنيتروجين، ولايفضل استهلاك الأوكسجين كليا للحاجة اليه من قبل بعض عمليات الأكسدة التي يجب ان تستمر بسرع منخفضة للحفاظ على وحدة وسلامة الخلايا. كما أن الخزن في تركيز أوكسيني واطئ يؤدي الى الاسمرار الداخلي للبطاطا وبعض الفواكه الاخرى في حين يفقد البعض الاخر منها نكهته .

ان الطريقتين الرئيسيتين للسيطرة على الفعالية الأنزيمية في الأغذية هما المعاملة بالحرارة والتجميد. وإذا تمت المعاملة بالحرارة بالطريقة الملائمة. فإنها تؤدي إلى اتلاف جميع الفعاليات الأنزيمية بما في ذلك المتسببة عن الاحياء المجهرية الملوثة. وحيث أن الحرارة متلفة عادة للمواد المسببة للنكهة في الأغذية فإن من الضرورة استخدام اللازم فقط لتحقيق اتلاف الفعاليات الأنزيمية بصورة تامة. وتستعمل فعالية البيروكسيد peroxidase مؤشرا لكفاءة المعاملة الحرارية. فإذا فقدت هذه الفعالية الأنزيمية كليا، دل ذلك على تلف الأنزيمات الاخرى. وتشكل البيروكسيداز وسيلة نافعة لهذا الغرض نظرا لانتشارها في جميع الانسجة النباتية .

أما التجميد فلا يؤدي إلى اتلاف الفعالية الأنزيمية وانما يخفضها وبذلك يطيل من عمر المخزون. وإذا لم يسبق العملية معاملة الغذاء بالماء الحار أو البخار فإن الفعالية الأنزيمية تنشط حال تدفئته.

يوضح الجدول (1-2) بعض الفعاليات الأنزيمية المفيدة والمتلفة للأغذية. وقد يكون من المفيد وجود أنزيم ما في مادة غذائية في حين يشكل وجوده في مادة أخرى ضررا عليها، وكمثال الأنزيم Polyphenol oxidase. يؤدي هذا

الأنزيم إلى خسائر كبيرة في الموز والتفاح والبطاطا بسبب تفاعلات الاسمرار التي يسببها الا ان وجوده في الشاي والقهوة والزبيب ضروري لنشوء اللون المناسب.

جدول 1-2 بعض الأنزيمات المستخدمة او المقترح استخدامها في الصناعات الغذائية .

الأنزيم	الغذاء	الهدف والفعل
الاميلازات (Amylases)	المعجنات	زيادة محتوى السكر عند الاختمار بواسطة الخميرة. Yeast
	اختمار البيرة	تحول النشا إلى مالتوز في عملية الاختمار. إزالة التعكر Turbidity الناتج عن النشا.
	الحبوب	تحويل النشا إلى ديكستريانات وسكر زيادة امتصاص الماء
	الحلويات	استرجاع السكر من فتات الحلويات. Candy Scraps
	عصير الفواكه	إزالة النشا ليصبح أكثر فواراً Sparkling
	الهلام	إزالة النشا ليصبح أكثر شفافية
	البكتين	يساعد في تحضير البكتين من ثفل التفاح Apple pomace
	الخضراوات	التحلل المائي للنشا وكمثال لجعل البازلاء أكثر ليونة وأسهل مضغاً.
السيليلاز Cellulase	اختمار البيرة	التحلل المائي لجدران الخلايا الكربوهيدراتية المعقدة.
	البن	التحلل المائي للسيليلوز خلال تجفيف الحبوب
Dextran	السكر السائل	تشخين السائل

الأنزيم	الغذاء	الهدف والفعل
sucrase	المثلجات اللبنية Ice cream	إضافة الديكستران بوصفة عامل تركيز أو بوصفه عاملاً مركزاً
Invertase	العسل الصناعي	تحويل السكروز إلى كلوكوز وفركتوز
Lactase	المثلجات اللبنية	منع تبلور اللاكتوز الذي يسبب التركيب الرملي المحبب
	الحليب	استقرار بروتينات الحليب في الحليب المجمد بإزالة اللاكتوز
Tannase	اختمار البيرة	إزالة عديدات الفينول
الأنزيمات البكتينية النافعة	كاكاو-الشكولا	فعالية التحلل المائي خلال تخمر الكاكاو
	البن	التحلل المائي للطبقة الخارجية الهلامية خلال تخمر الحبوب
	الفواكه	تليينها
	الزيتون	استخراج الزيت
	النبيد	لجعله رائقاً
الأنزيمات	عصير-	هدم وفصل المواد البكتينية الموجودة في العصير
البكتينية المتلفة	الحمضيات	
	الفواكه	التلين المفرط Excessive softening
البروتيازات	المعجنات	فعل التليين في العجين. يختزل زمن المزج ويزيد من قابليته المد للعجين.
Proteases النافعة	اختمار البيرة	نشوء المواد المغذية والنكهة والقوام خلال الاختمار
	الحبوب	تحويل البروتينات لزيادة سرعة التجفيف

الأنزيم	الغذاء	الهدف والفعل
	الجبن (البيض، منتجات البيض)	تخثر الكازين Casein تحسين خواص التجفيف
	السماك واللحوم	جعلها سهلة المضغ. استرداد البروتينات من العظام، تحرير الزيوت
	الحليب	في تحضير حليب فول الصويا
	النيبيذ	جعله رائقاً
البروتيازات المتلفة	البيض	تقلل من فترة الخزن
	الطحين	تقلل من حجم الصمون وتؤثر في بنيته أحياناً
الليباز Lipase النافع	الأجبان	خصائص النكهة والنفوج والخزن
	الزيوت	تحويل الشحوم إلى كلسيرول وأحماض دهنية
	الحليب	إنتاج الحليب بنكهة خاصة لإستخدامه في الشيكولا
الليباز الضار	الحبوب	زيادة اسمرار فطيرة الشوفان، اسمرار نخالة القمح
	الحليب ومنتجاته	التزنخ الناتج عن التحلل المائي
	الزيوت	التزنخ الناتج عن التحلل المائي
الفسفاتازات phosphatases	أغذية الأطفال	زيادة الفسفات المنتفع منها
	اختمار البيرة	التحلل المائي لمركبات الفسفات
	الحليب	الكشف عن كفاءة البسترة
النيوكليازات Nucleases	تقوية النكهة	إنتاج النيوكليوتيدات والنيوكليوسيدات
البيروكسيدازات Peroxidases	الخضراوات	الكشف عن جدوى السلق يستخدم مع اوكداز الكلوكوز oxidase Glucose

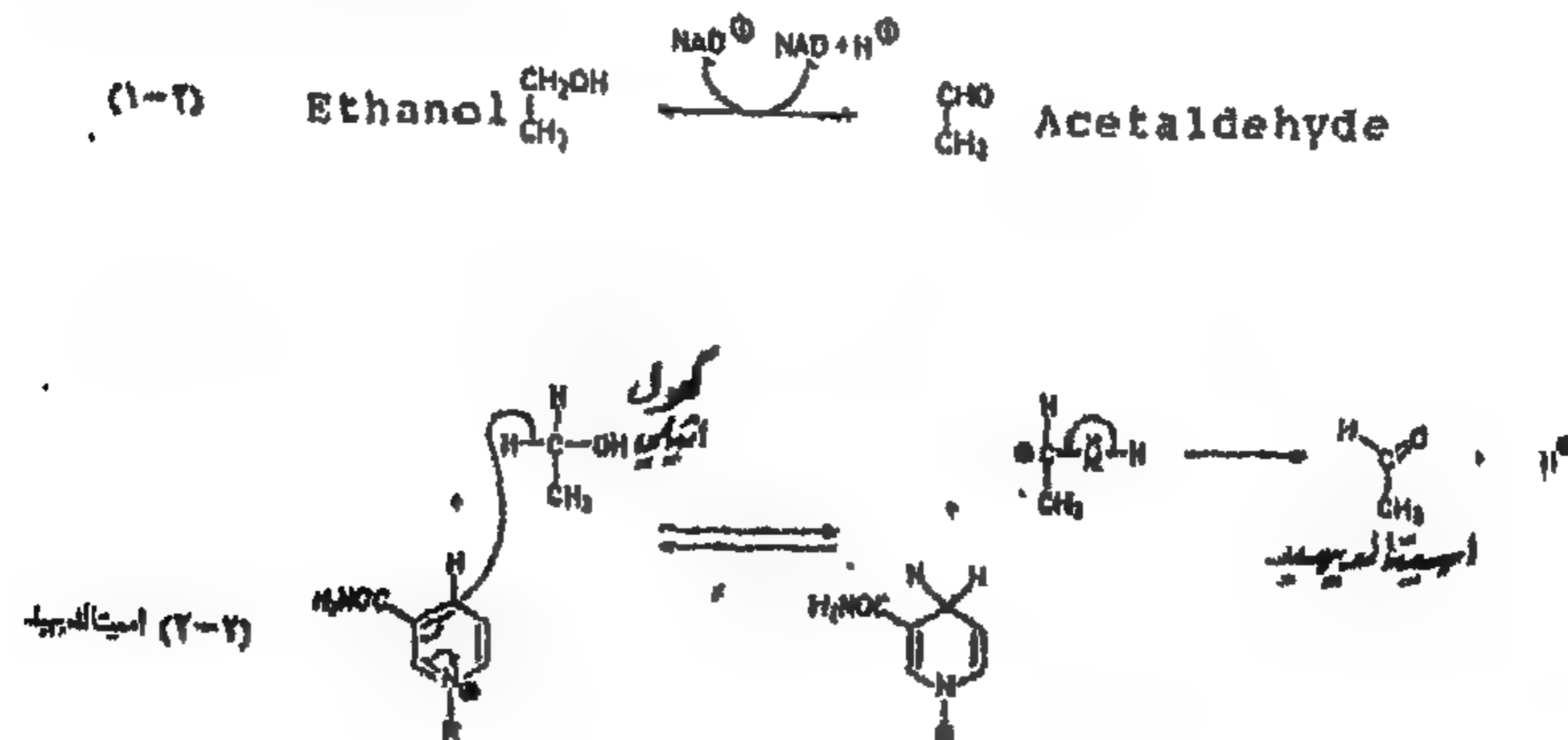
الأنزيم	الغذاء	الهدف والفعل
النافعة		لتقدير الكلوكوز
المتلفة	الخضراوات	تؤدي إلى نكهات غير مرغوبة
	الفواكه	الإسهام في تفاعلات الإسمرار
الكاتالاز	الحليب	إتلاف H_2O_2 بالبسترة الباردة Cold Pasturization
	المنتوجات	لإزالة الكلوكوز أو/والأوكسجين لمنع الاسمرار أو/والأكسدة. يستخدم سوية مع اوكسداز
اوكسداز الكلوكوز Glucose oxidase	المنتوجات المختلفة	الكلوكوز لإزالة الأوكسجين أو/ والكلوكوز من المنتوجات مثل البية والجبن، والمشروبات الغازية والبيض المجفف وعصير الفواكه واللحوم والأسماك وبودرة الحليب والنيذ لمنع الأكسدة أو/ والاسمرار. يستخدم سوية مع الكاتالاز
		لتعيين الكلوكوز يستخدم سوية مع البيوكسداز
أوكسدازات عديدة الفينول النافعة Polyphenol oxidases	الشاي، القهوة التبغ	لنشوء الاسمرار خلال النضوج لبلاختمار أو/ وعملية التعتيق
أوكسدازات عديدة الفينول المتلفة	الفواكه، الخضراوات	الاسمرار، نشوء نكهة غير مرغوبة، الفيتامينات
الأنزيم المؤكسج للشحوم Lipoxygenase	الخضراوات	تلف الأحماض الدهنية الجوهرية وفيتامين A ونشوء نكهات غير مرغوبة.

الأنزيم	الغذاء	الهدف والفعل
او كسيداز حامض الاسكوربيك	الخضراوات، الفواكه	إتلاف فيتامين C (حامض الإسكوربيك)
Thiaminase	السّمك، اللحوم	إتلاف الثيامين

6-2 أنزيمات الأكسدة المراجعة Oxidoreductase

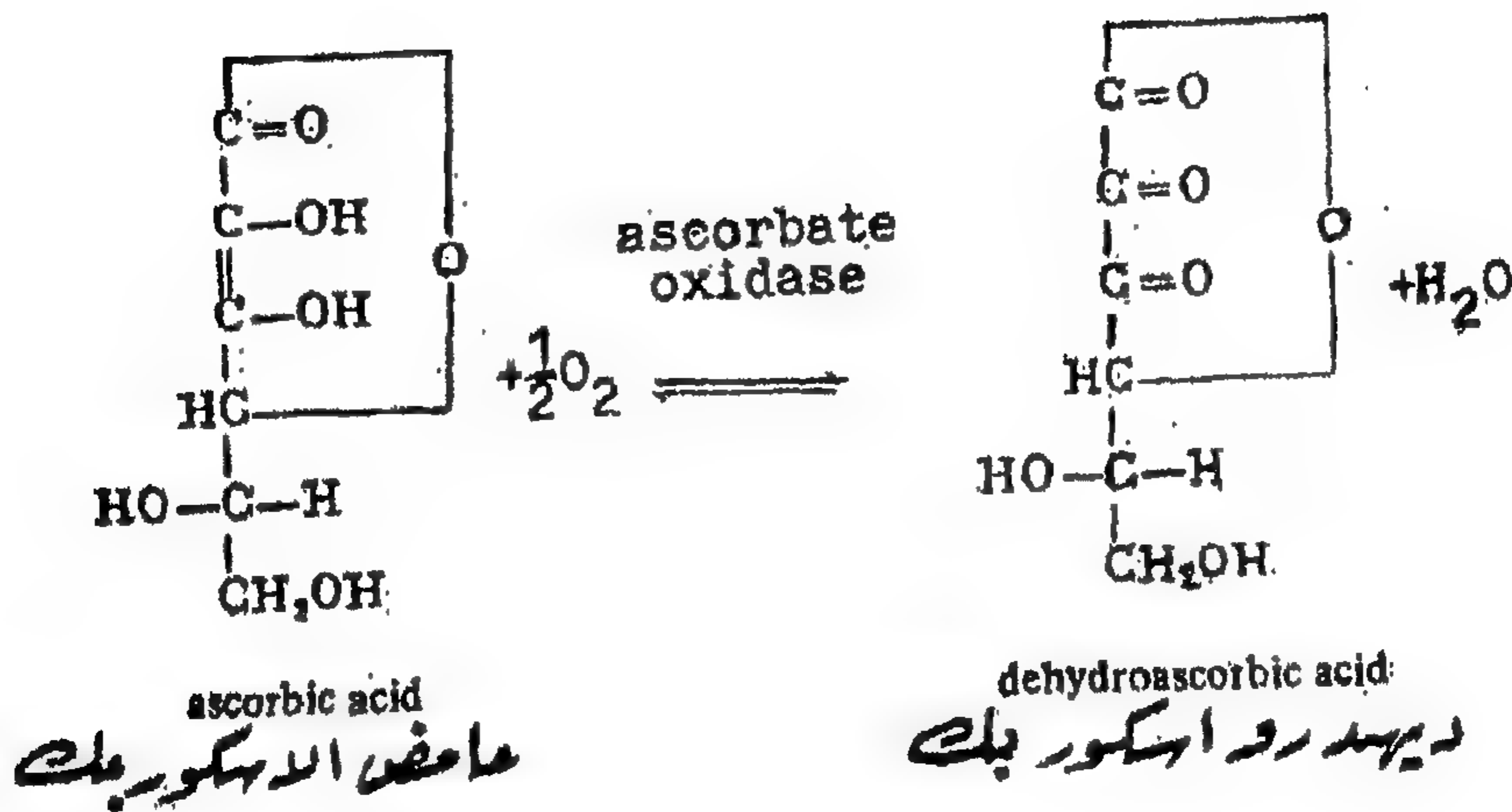
تشمل أنزيمات الأكسدة المراجعة جميع الأنزيمات المحفزة لتفاعلات الأكسدة والاختزال مثل الأنزيمات النازعة للهيدروجين Dehydrogenases والأنزيمات المسماة Oxidases وOxygenases وOxygenases وperoxidases وهذه بأجمعها أسماء شائعة لمجاميع أنزيمية تنتمي إلى الصنف أعلاه وهو الصنف الأول ضمن التصنيف النظامي.

تقوم نازعات الهيدروجين بتحفيز تفاعلات الأكسدة والاختزال وذلك لإن فقدان مركب لذرات الهيدروجين (أو ما يسمى مكافئات الاختزال Reducing equivalents يعني أكسدته نظراً لاحتواء ذرة الهيدروجين على إلكترون ومن ثم فقدان ذرة هيدروجين يعني فقدان إلكترون وعلى العكس فإن اكتساب مركب لذرة هيدروجين يعني اكتساب إلكترون وبالتالي اختزاله، ويمكن توضيح ما تقدم بالتفاعل المحفز بالأنزيم dehydrogenase Alcohol



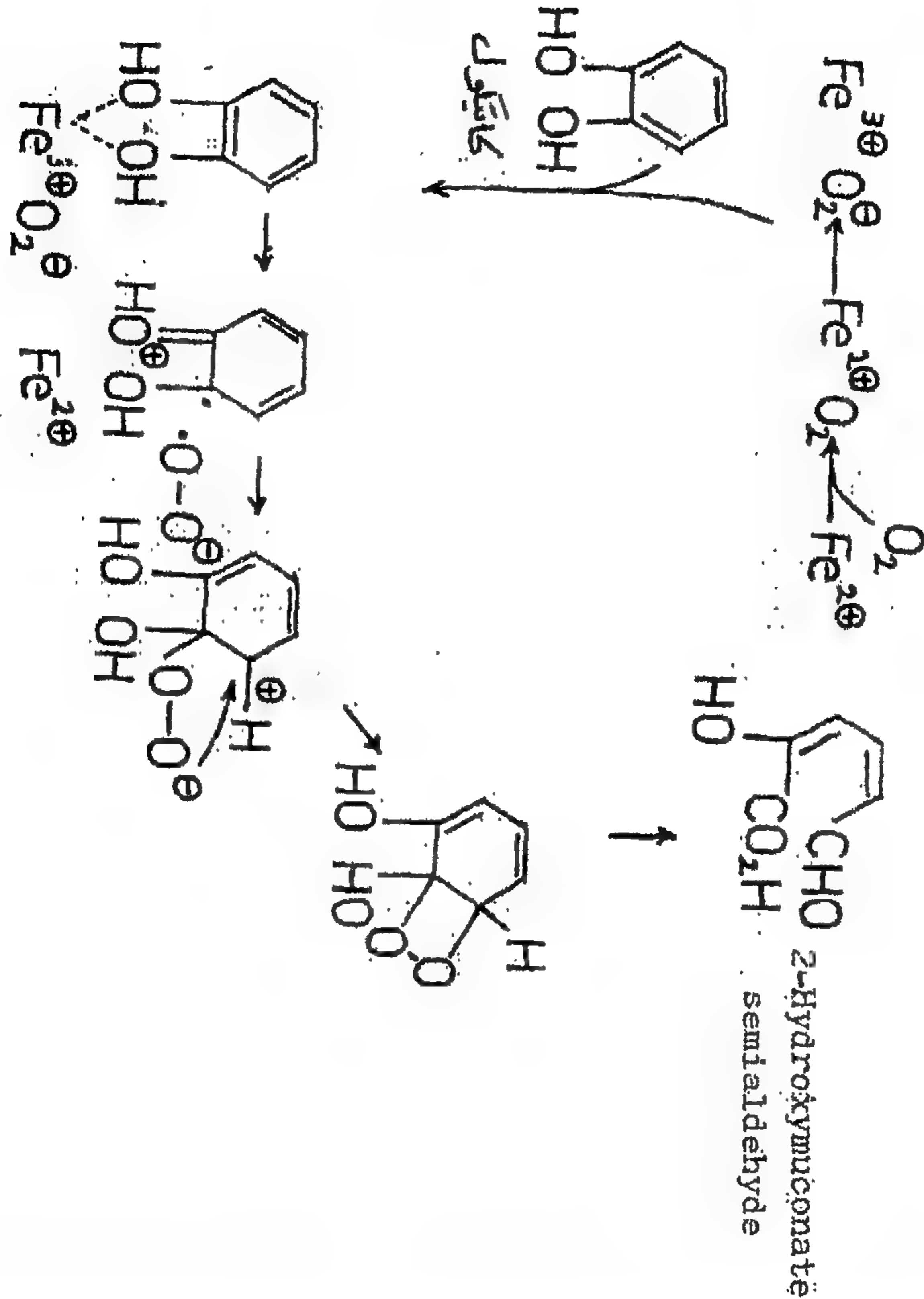
ملاحظة: تمثل R ما تبقى من الجزيئة (انظر الشكل 1-7)

تحفز أنزيمات الاوكسداز Oxidases نقل الإلكترونات أو ذرات الهيدروجين من الركيزة إلى الأوكسجين الذي يختزل بدوره إلى ماء أو بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 كمثال الأنزيم Ascorbate oxidase الذي يوكسد حامض الإسكوريك منزوع الهيدروجين Dehydroascorbic acid مع تكوين جزيئة ماء.



تستخدم الأنزيمات المسماة Oxygenases الأوكسجين الجزيئي في التفاعلات التي تحفزها وتنقل إحدى ذرتيه أو كليهما إلى الناتج. يوضح الشكل (2-5) الآلية المقترحة للتفاعل المحفز بالأنزيم Catechol 2,3- oxygenase الذي يحول الركيزة Catechol إلى 2-Hydroxymuconate semialdehyde. يحتوي الأنزيم على أيون الحديدوز في الموقع النشط، وعند ارتباطه بالأوكسجين الجزيئي يتأكسد إلى حديدك مع تكوين جذر الأوكسجين (O_2^-). يهاجم المعقد الأنزيمي الناتج ($Enz-Fe^{3+}O_2^-$) مركب ال Catechol مؤدياً إلى انفتاح الحلقة وإدخال ذرتي أوكسجين لتكوين الناتج.

سوف نتناول فيما يأتي شيء من التفصيل بعض أنزيمات الأكسدة المرجعة وأهميتها التطبيقية.



شكل 2- 5 تحول المركب Catechol إلى 2-Hydroxymuconate
Semialdehyde بفعل الأنزيم Catechol 2,3- oxygenase أيونات الحديدوز
المرتبطة بالأنزيم في عملية التحفيز

2-6-1 O-Diphenol Oxidase وتفاعلات الإسمرار Browning reactions في الأغذية.

يحدث هذا النوع من الإسمرار الأنزيمي على سطح بعض ثمار الفواكه والخضراوات كالتفاح والموز والبطاطا والفطر عند تلف أو خدش أو تقشير أو تعريض الأنسجة إلى ظروف غير طبيعية. تتلون الأنسجة المخدشة بلون داكن عند تعرضها لأوكسجين الهواء الجوي وذلك لتحول المركبات الفينولية إلى صبغة بنية اللون تسمى Melanin ويدعى الأنزيم المسؤول عن بدء تفاعلات الإسمرار هذه بالإسم الشائع O-Diphenol oxidase ويعطى التسمية النظامية التالية:

O-diphenol oxygen oxidoreductase, Ec 1.10.3.1

وهناك تسميات شائعة أخرى له وهي Tyrosinase و Catecholase و Phenolase. يؤدي هذا الأنزيم إلى أكسدة الفينولات الأحادية Monophenols كالتيروسين Tyrosine والفينول و p-cresol و 3,4-Dimethylphenol. ويمكن أكسدة عدد من المركبات أورثو- ثنائية الفينول O.Diphenol وكمثال catechol وثلاثيتها Triphenols مثل pyrogallol بفعل أنزيمات ال Phenolase هذه كما في الجدول (2-2).

ويمكن تقسيم التفاعلات التي تحفزها الأنزيمات التي تنتمي إلى مجموعة الفينولاز Phenolase إلى قسمين:

أ- Phenolase hydroxylase أو ما يسمى Cresolase activity

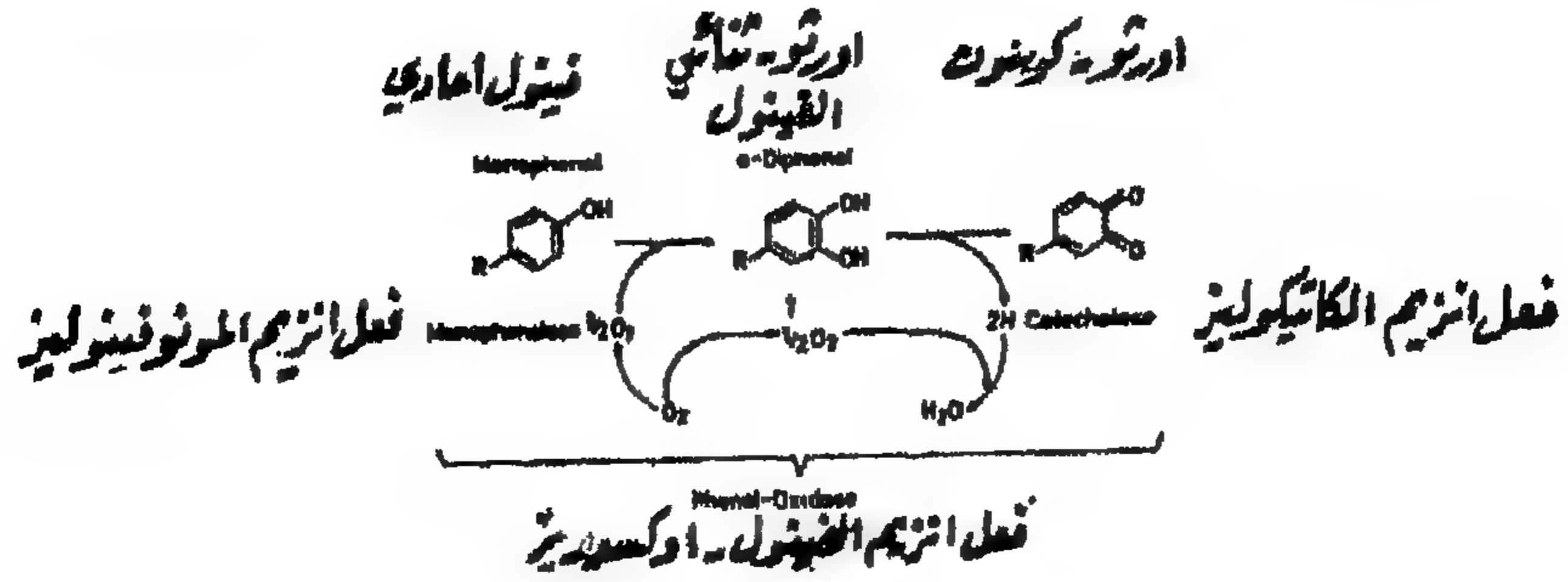
ب- تفاعلات polyphenol oxidase أو ما يسمى Catecholase activity.

فعند أكسدة الفينولات الأحادية يكون للأنزيم تأثير ثنائي في هذه المركبات (شكل 2-6) فهو يحفز إدخال ذرة أوكسجين في الركيزة ويحولها إلى O-Diphenol وهذا ما يسمى MonoPhenolase effect ثم يعمل على سحب ذرتي هيدروجين من الناتج O-Diphenol وينقلهما إلى الأوكسجين لتكوين جزيئة ماء ويسمى التأثير الأخير (Catecholase effect) وينتج عنه أورثو-كوينون

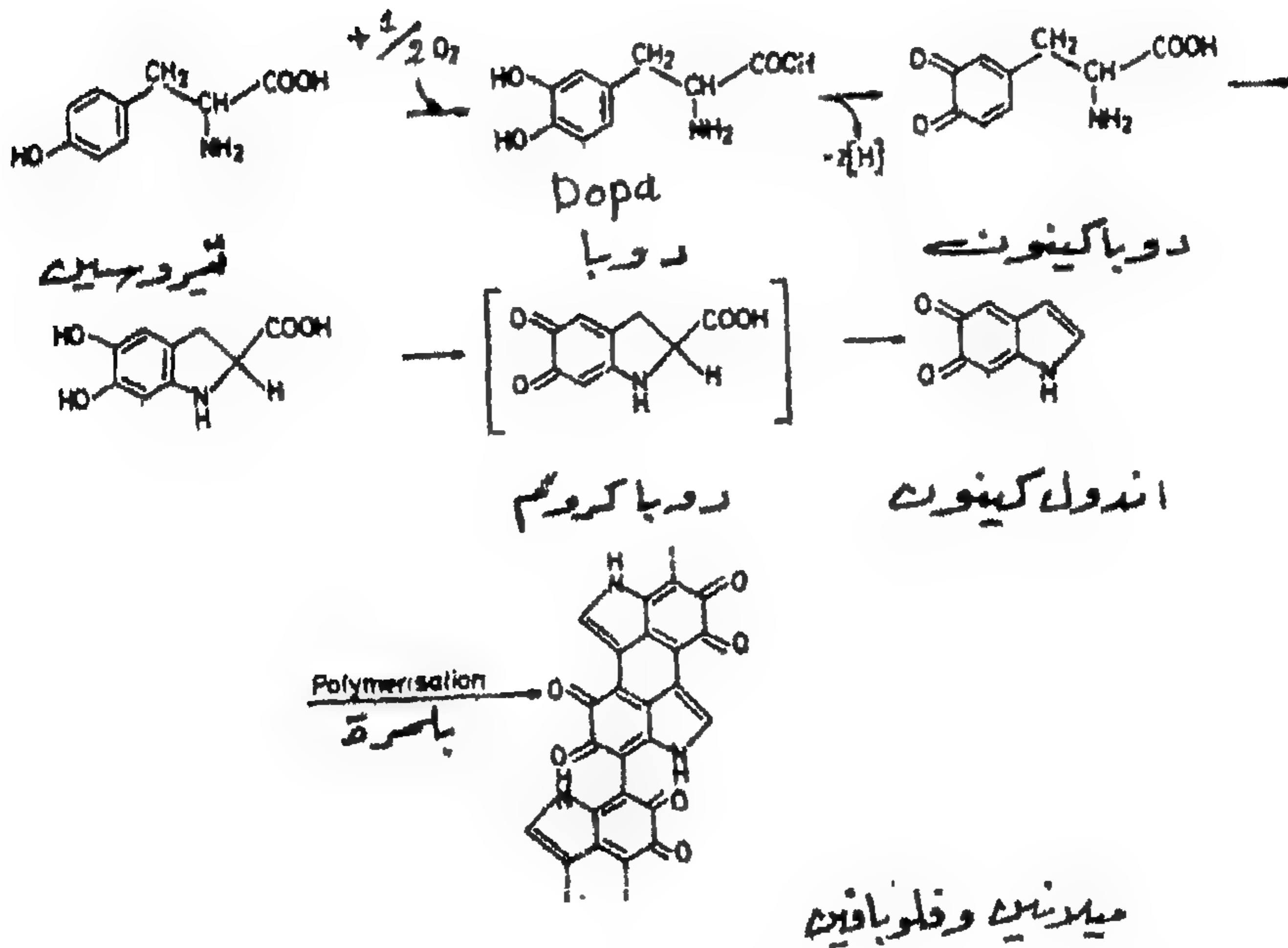
O. Quinone تنتج تفاعلات الإسمرار عن هذه الفعاليات الأنزيمية كما في الشكل (2-7) الذي يوضح تأثير أنزيمات ال Phenolase في الحامض الأميني تيروسين.

جدول 2-2 الركائز المختلفة للأنزيم O-Diphenol oxidase والسرعات النسبية لأكسدتها.

الركيزة Substrate	التركيب الكيميائي	السرعة النسبية (%) لأكسدتها
Chorogenic acid		10
Catechol		50
Pyrogallo		35
Caffeic acid		31
3.4- Dihydroxy phenyl- alanine (Dopa)		20
P- Cresol		12
Tyrosine		5
Tyrosine-ethylester	-	4
Rutin (flavono glycoside)		4
p- Cinnamic acid		2



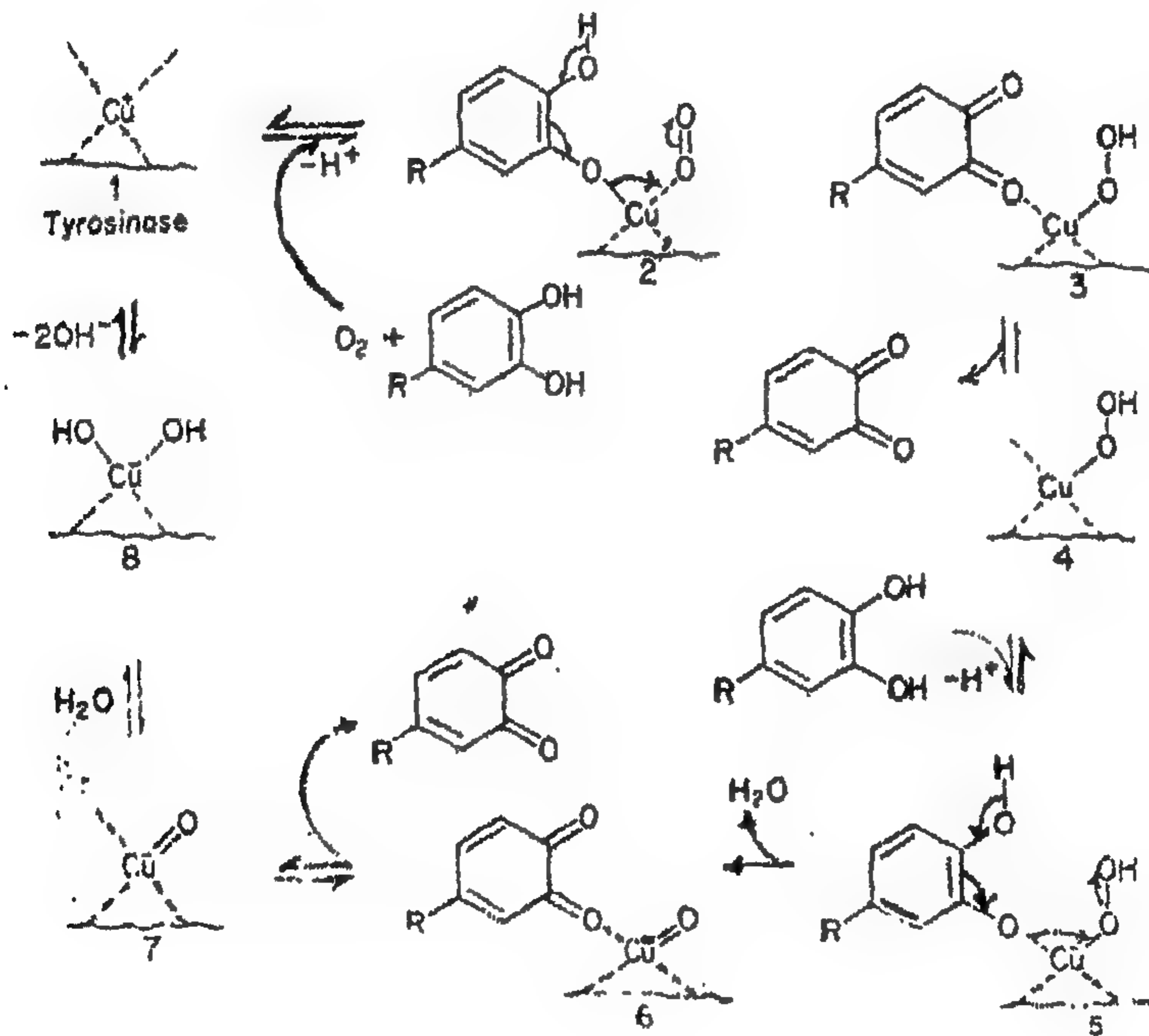
شكل 2- 6 الفعاليات التحفيزيتين MonoPhenolase و Catecholase للأنزيمات
(Phenolase) O- Diphenol oxidase



شكل 2- 7 تكوين الميلانين بني اللون من الحامض الأميني تيروزين نتيجة لفعل أنزيمات
الفينولاز (O- Diphenol oxidase) Phenolase

يتضح من الشكل تكوين المركب ميلانين و phlobaphene نتيجة لبلمرة Polydmerization جزيئات الاورثو-كينون المسمى Indilquinone.

يحتوي البحوث إلى وجود النحاس بصيغة أيون النحاسوز (Cu^+) كما في الأنزيم MonoPhenolase أو بشكل نحاسيك (Cu^{++}) كما في الأنزيم Catecholase علماً بأن كلا الفعالتين التحفيزيتين تعود لتركيب بروتيني واحد. يوضح الشكل (2-8) الآلية المقترحة لأكسدة مركبات O-Diphenol بواسطة الأنزيم polyphenol oxidase إلى أورثو-كوينون O-Quinone ونظراً لوجود أيون النحاس في الموقع النشط، فإن من الممكن إضافة مواد تشكل معقدات معه Metal Complexing agents مثل فلوريد الصوديوم NaF وازيد الصوديوم (NaN_3) وبذلك تثبط الفعالية التحفيزية.



شكل 2-8 الآلية المقترحة لأكسدة مركبات O-Diphenol بواسطة الأنزيم Polyphenol oxidase

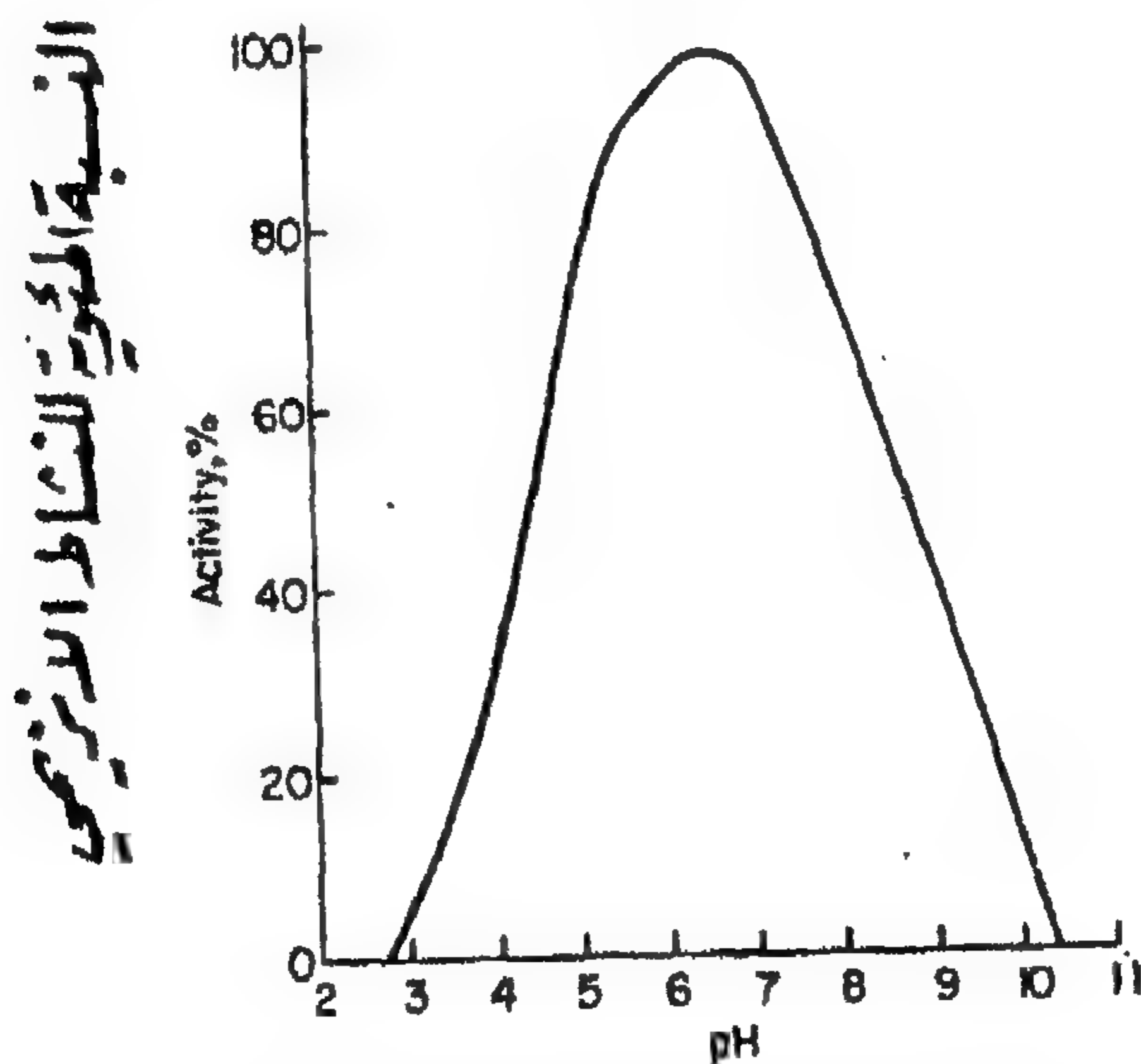
2-6-1-1 السيطرة على تفاعلات الإسمرار

تشكل تفاعلات الإسمرار مشكلة كبيرة في تكنولوجيا الغذاء ولمنع حدوثها والسيطرة على ظاهرة الإسمرار غير المرغوبة يمكن اتباع إحدى الطرق الآتية:-

1- إضافة الحوامض:

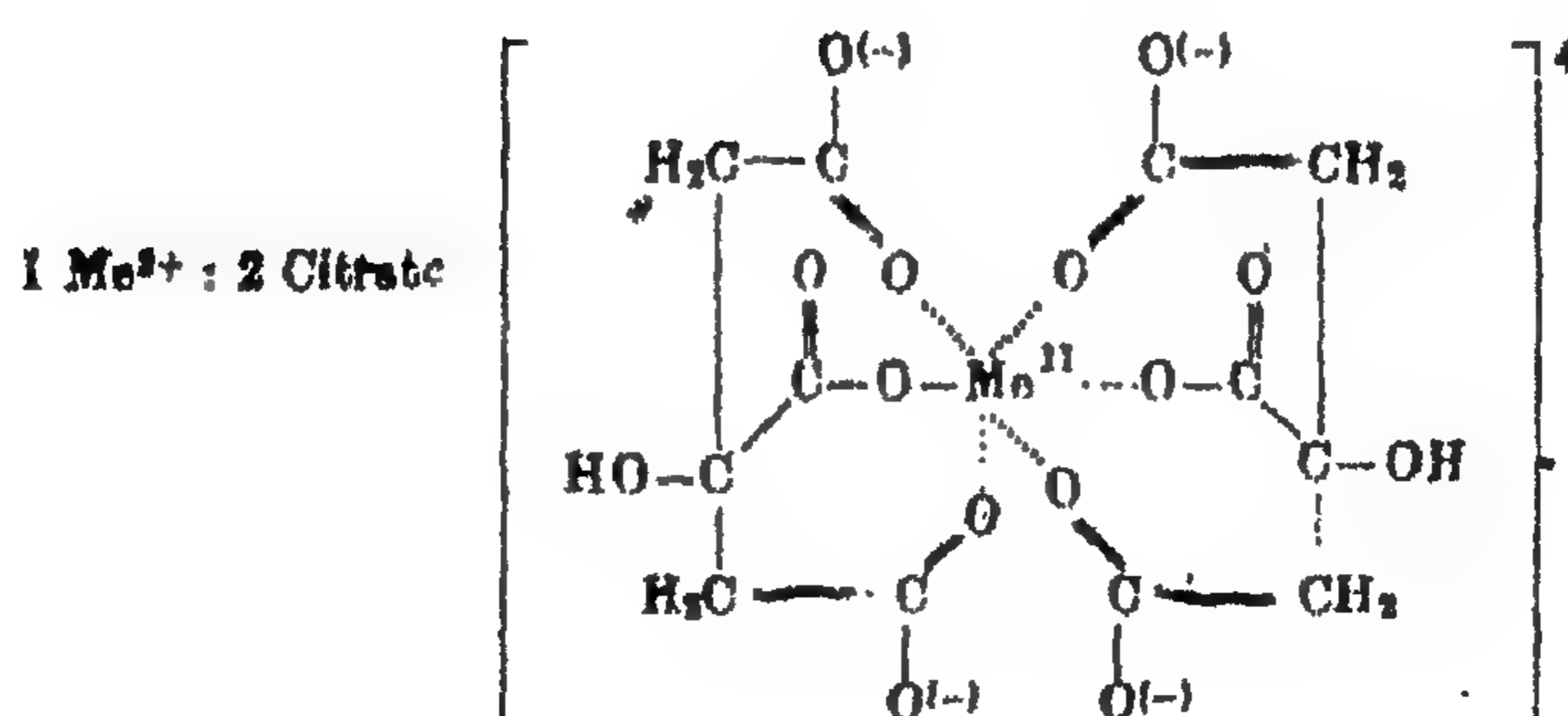
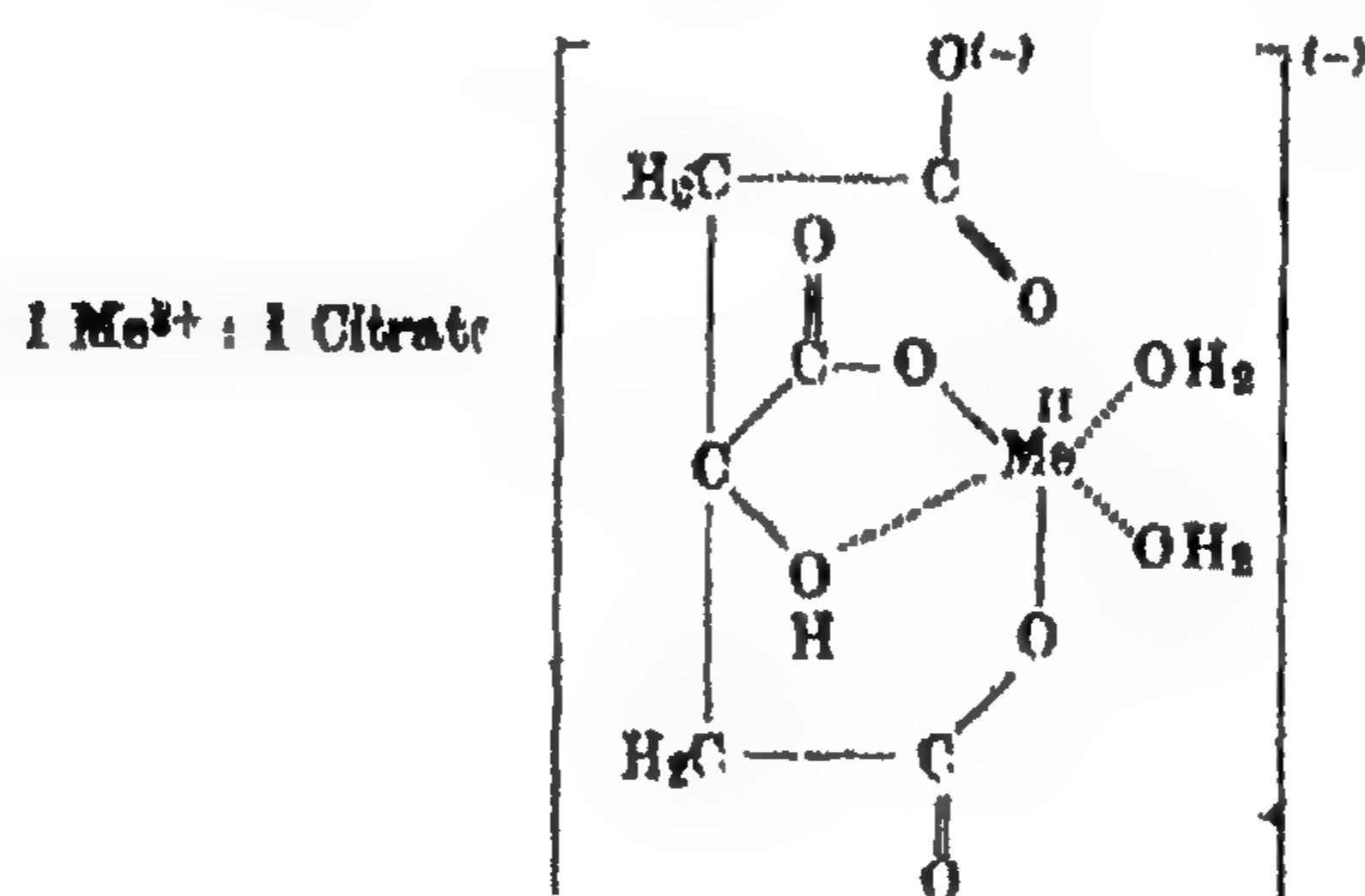
تستعمل هذه الطريقة بكثرة للسيطرة على تفاعلات الإسمرار وتستخدم لهذا الغرض الحوامض الموجودة بصورة طبيعية في الأنسجة وخاصة حامض الستريك وحامض المالك وحامض الفسفوريك وحامض الإسكوريك. ويكون تأثير هذه الحوامض بصورة عامة خفض الرقم الهيدروجيني (pH) للأنسجة ومن ثم إبطاء سرعة تفاعلات الإسمرار.

يوضح الشكل (2-9) بأن الرقم الهيدروجيني الأمثل للفعالية الأنزيمية يتراوح بين 6 و 7 في حين يفقد الأنزيم نشاطه في PH أقل من 3.



شكل (2-9) تأثير الرقم الهيدروجيني (pH) في نشاط الانزيم Phenolase

إن لحامض الستريك تأثيراً ثنائياً في أنزيم الفينولاز Phenolase، فهو إضافة إلى تأثيره الحامضي، يعمل على تكوين خلايه chelating agent مع أيون النحاس الموجود في الموقع النشط للأنزيم. إن تركيب المعقد الناتج Metal-citrate complex غير معروف تماماً إذ يعتمد إضافة إلى تكافؤ الأيون على ظروف التفاعل مثل التركيز ودرجة الحرارة والرقم الهيدروجيني ونسبة السترات إلى الأيون. يرتبط أيون النحاس في المعقد مع السترات من خلال مجموعتي الكربوكسيل بغض النظر عن نسبة الأيون إلى السترات وسواء كانت 1:1 أو 1:2 أو 3:1. يمكن توضيح الترتيب الفراغي لأيون النحاس في المعقدات من هذا النوع في محيط حامضي ضعيف في الشكل (2-10) وهذه صورة مبسطة لا تأخذ بعين الاعتبار جزئيات الماء الداخلة في التركيب المعقد.

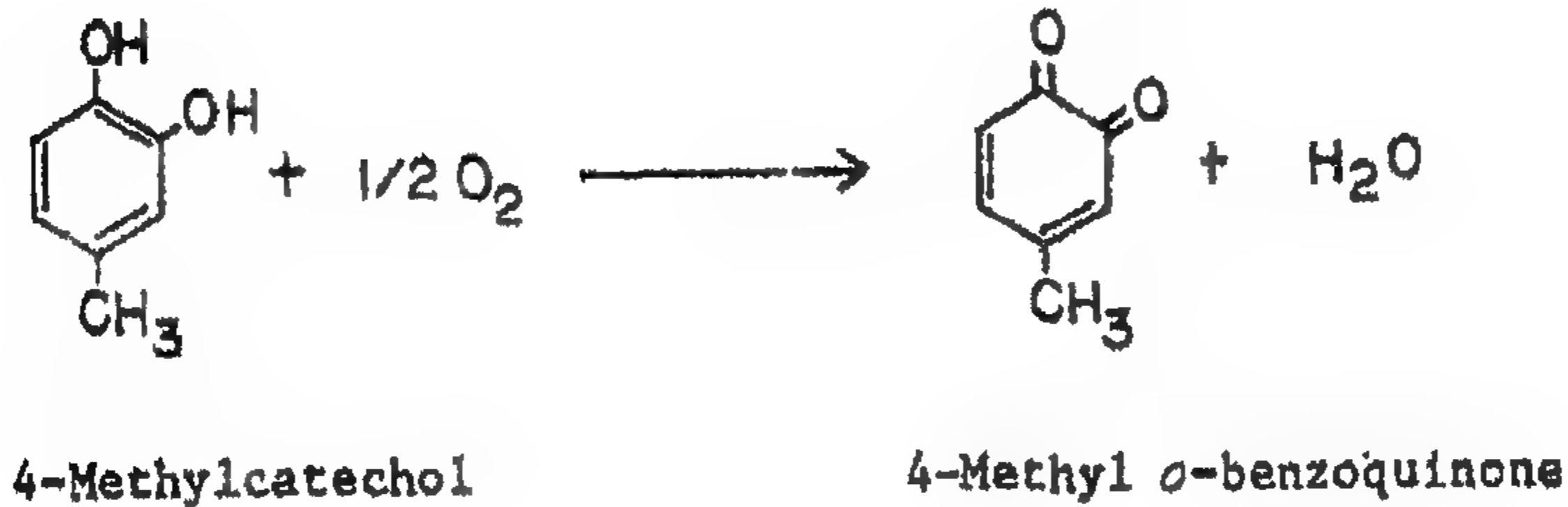


شكل 2-10 المعقدات المتكونة بين النحاس - الموجود في الموقع النشط لإنزيم الـ Phenolase - وحامض الستريك

تجدر الإشارة إلى أن حامض المالك- الذي يعد الحامض الأساس في عصير التفاح- أكثر كفاءة في تثبيط أنزيم ال Phenolase من حامض الستريك الموجود في عصير التفاح أيضاً.

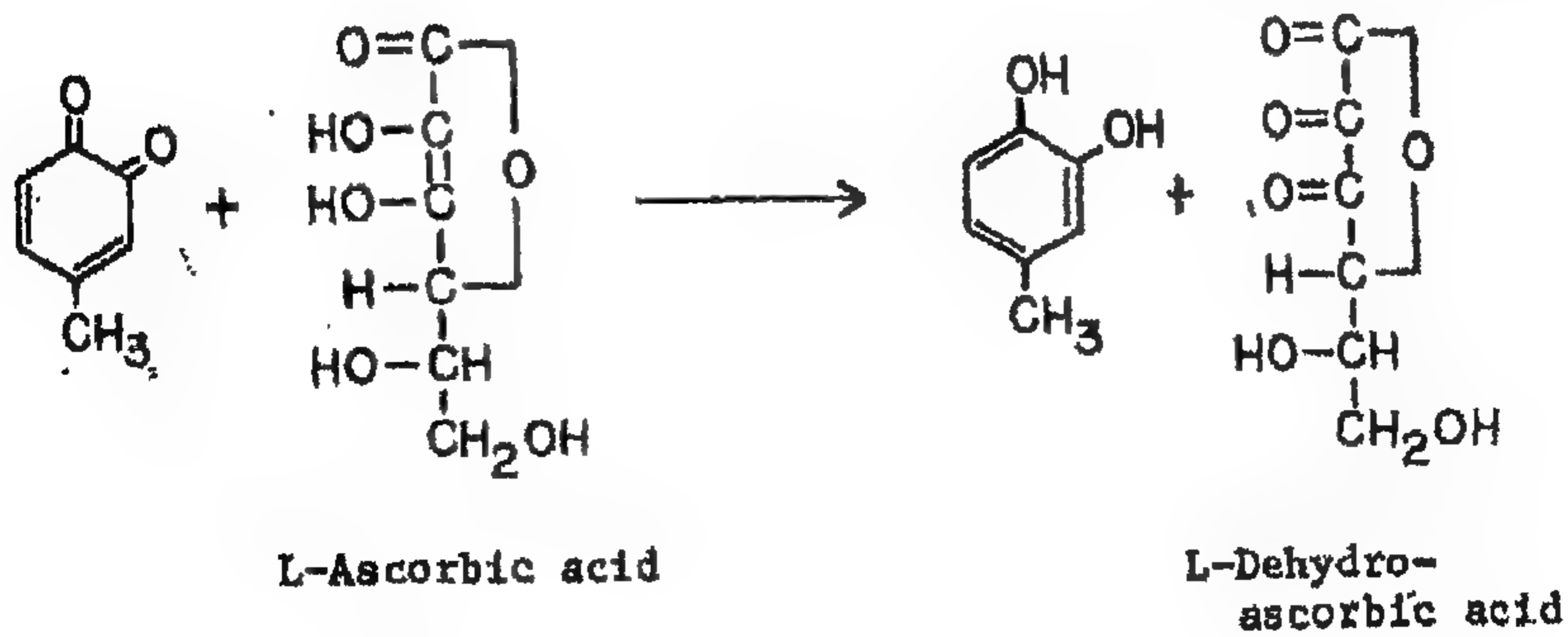
يتفوق حامض الإسكوريك في تأثيره التثبيطي في حامضي الستريك والمالك وبذلك يستخدم لمنع تفاعلات الإسمرار الأنزيمية ويمكن توضيح تأثيره في أنزيم ال Phenolase بالمعادلتين الآتيتين:

أ- يبتدىء تفاعل الإسمرار بتأثير الأوكسجين الجزيئي 4-Methyl catechol- ويحوّله إلى 4-Methyl o-benzoquinone-



(4 -2)

ب- يؤدي حامض الإسكوريك إلى إعادة اختزال الناتج وتكوين المركب الأصلي 4-Methyl catechol-

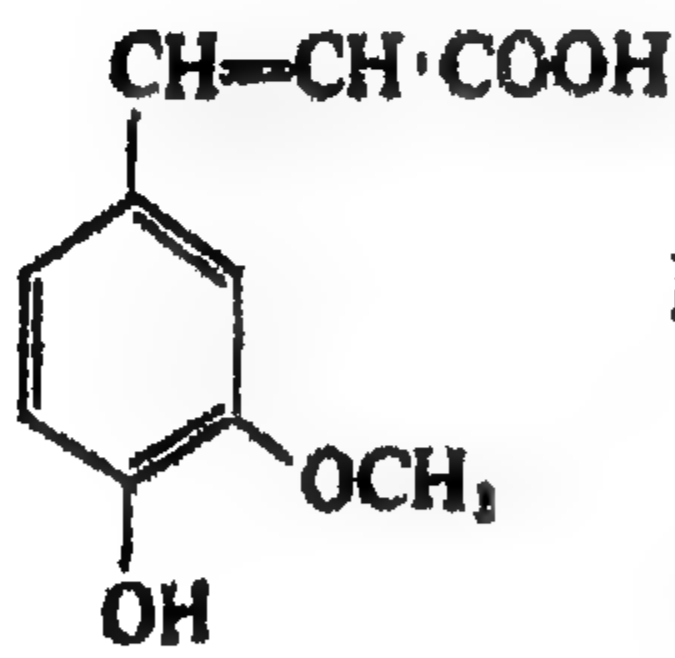


إضافة إلى ما تقدم يمتلك حامض الإسكوريك خواصاً أخرى مفيدة فهو لا يؤثر على نهكة المادة الغذائية المصنعة بالتراكيز المستخدمة لهذا الغرض كما أنه لا يؤدي إلى تآكل المعادن not corrosive إضافة إلى قيمته الغذائية بوصفه مقوياً.

لقد وجد بأن إضافة حامض الإسكوريك بتركيز 660 ملغم لكل كلغم من الفاكهة، تؤدي إلى السيطرة على تفاعلات الإسمرار وتقلل من الأوكسجين الموجود في الفراغ العلوي لعلب التفاح المقطع نصفياً. إن هذه الطريقة المستخدمة للسيطرة على تفاعلات الإسمرار الأنزيمية كثيرة الفائدة نظراً لشحن نسيج التفاح ومحتواه العالي نسبياً من الأوكسجين.

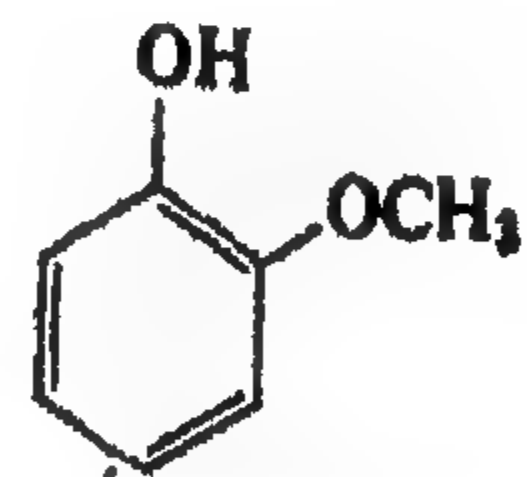
2. مثيلة ركائز أنزيم الفينولاز Phenolase

بالإمكان منع حدوث تفاعلات الإسمرار وذلك بتغيير تركيب الركيزة O-Diphenol لأنزيم ال Phenolase بحيث لا يستطيع الأنزيم أن يعمل عليها وهكذا لا يعد المركبان Guaicol و Ferulic ركيزتين للأنزيم بسبب مثيلتهما Methylation.



Ferulic acid

حامض الفيريك



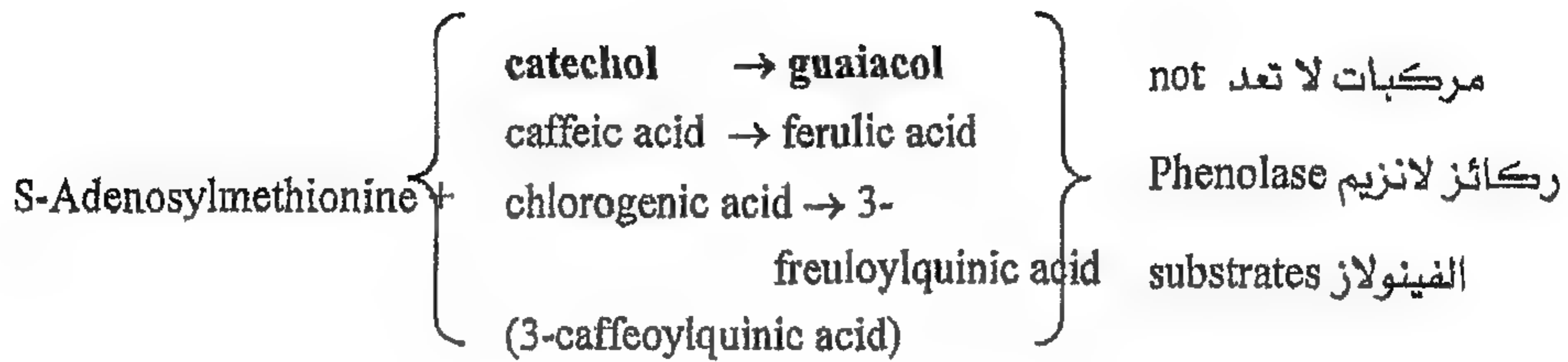
Guaicol

غوايكول

(5 - 2)

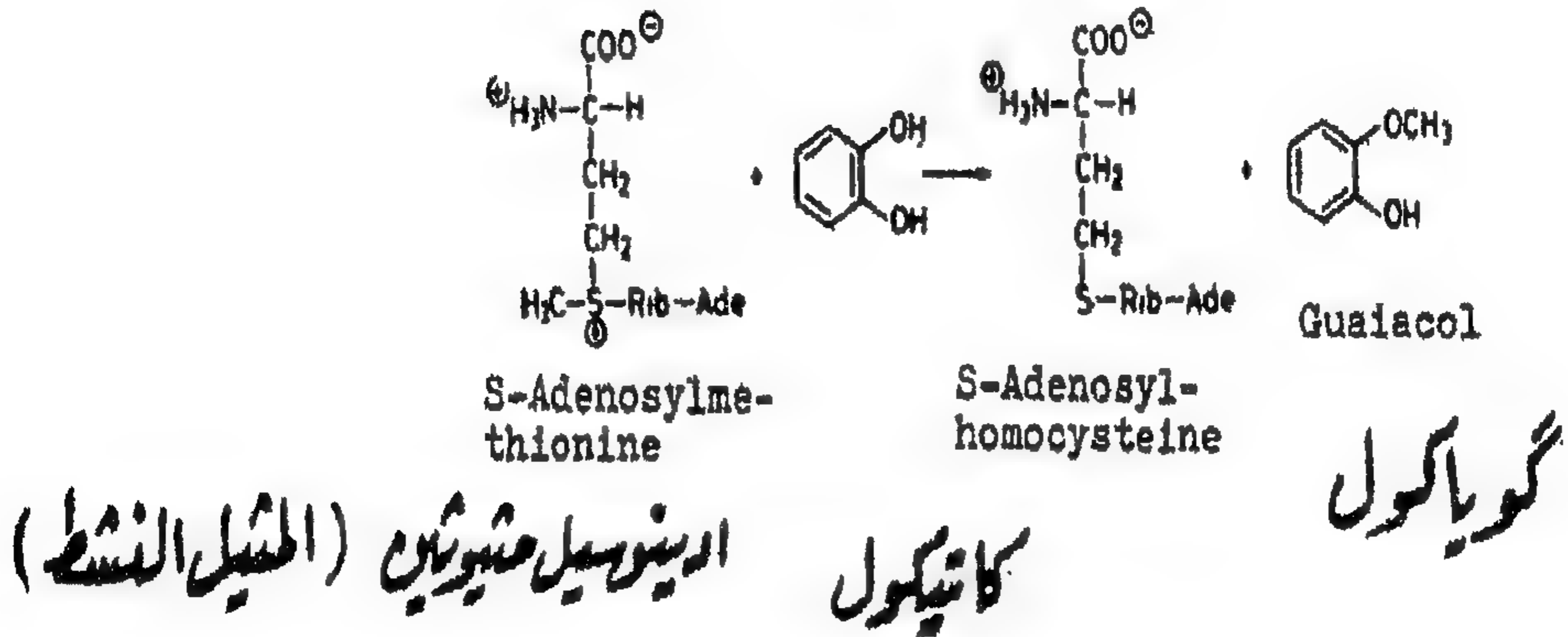
وهكذا يمكن منع تفاعلات الإسمرار الأنزيمي في الثمار والخضراوات بمثيلة ركائز الأنزيم Phenolase. تحتوي أنسجة النباتات مثل pampas grass على

الأنزيم Catechol Methyltransferase الذي يشترك في تخليق اللكنين Lignin ومركبات أروماتية أخرى. يعمل هذا الأنزيم بوجود مركب مانح لمجموعة المثل مثل S-adenosyl methionine وآخر مستقبل لها مثل O-Diphenol :



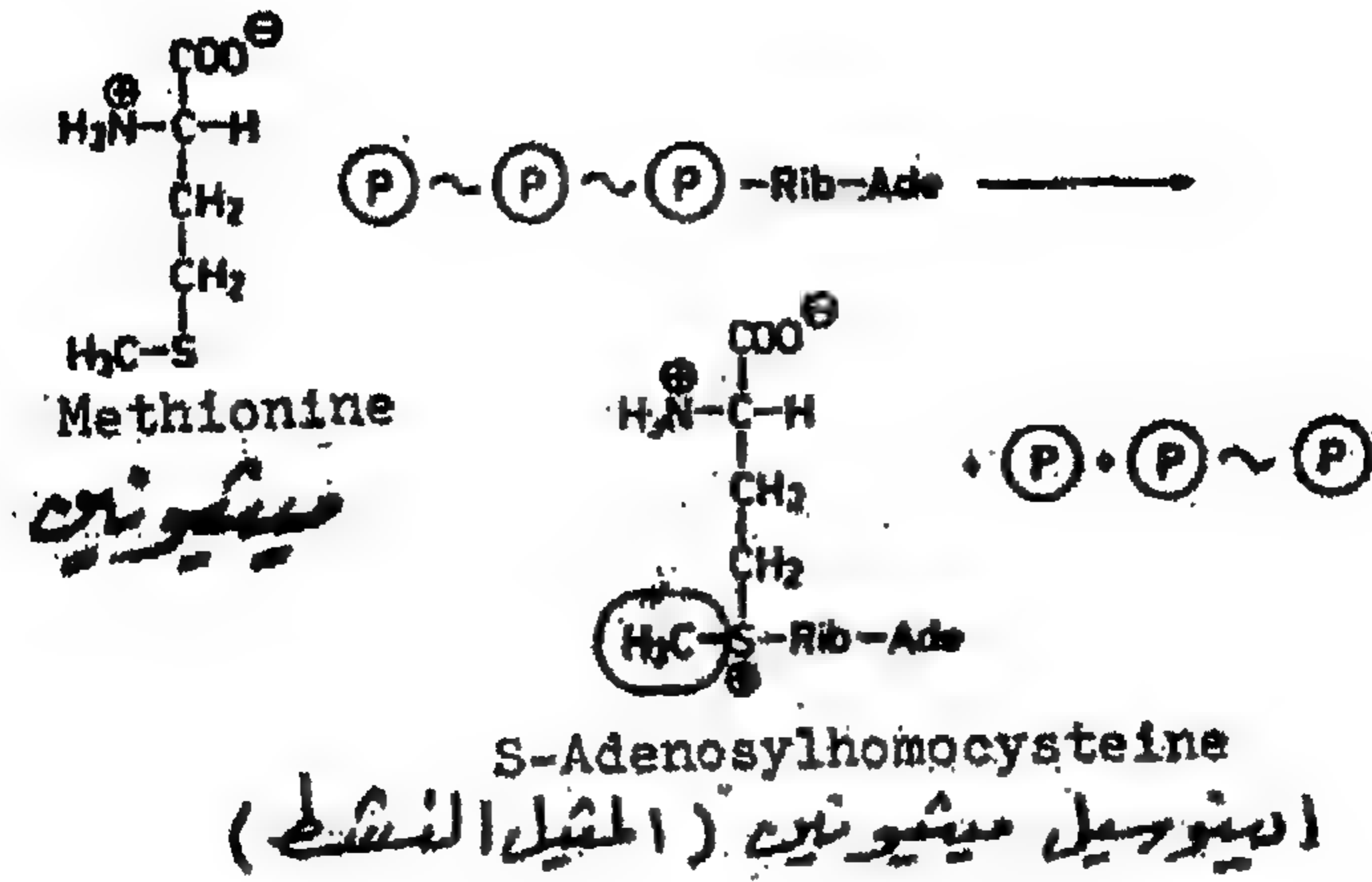
(2- 6)

ويمكن توضيح التفاعل الأنزيمي كما يلي :



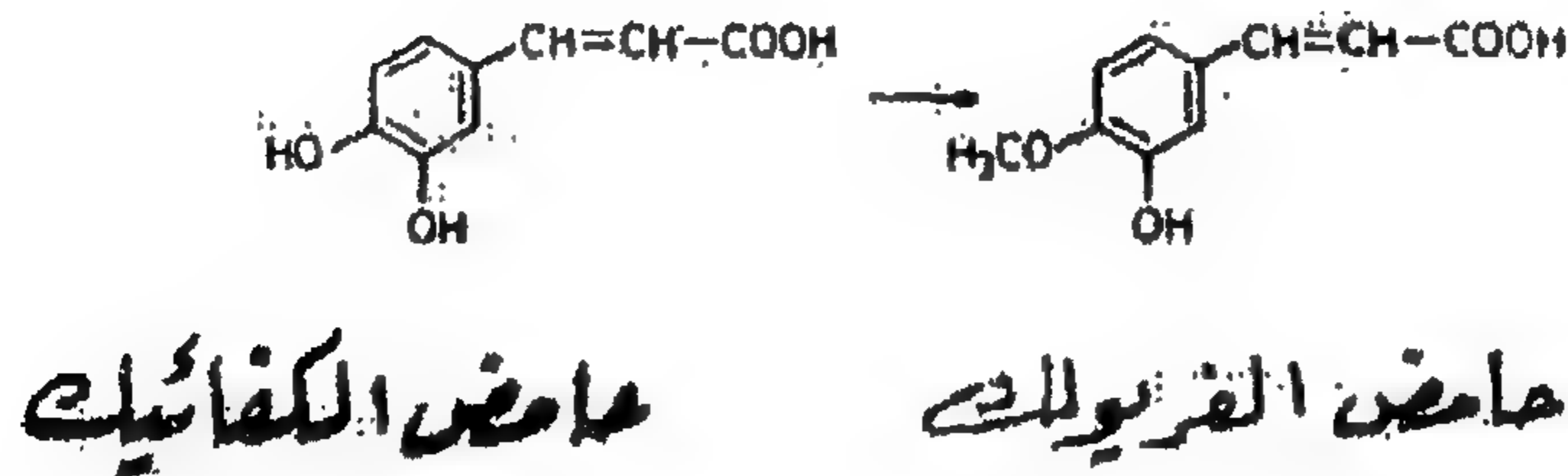
... (2-7)

يمكن الحصول على المركب S-Adenosylmethionine ذي مجموعة "المثل الفعالة" "Active methyl" وذلك لتثبيت الحامض الاميني ميثيونين Methionine عند تفاعله مع المركب ATP وكما يأتي :

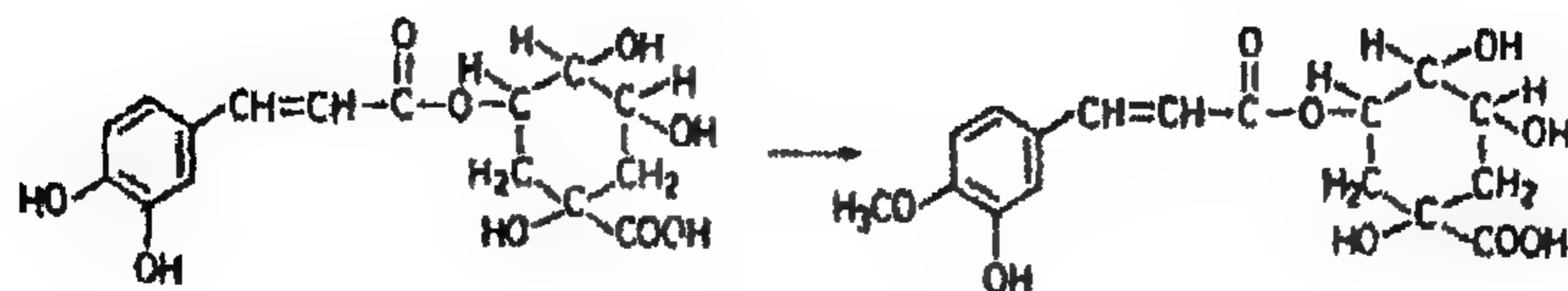


(8-2)

ويتم مثيلة مشتقات المركب Catechol بوجود S-Adenosylmethionine والأنزيم Catechol methyltransferase لتغير تركيبها بحيث لا تصلح ركائز الأنزيم phenolase، ومن هذه المشتقات chlorogenic acid وCaffeic acid كما في المعادلتين الآتيتين:



.... (9-2)



حامض الكلوروجينيك

3-Feruloylquinic acid

(10-2) ...

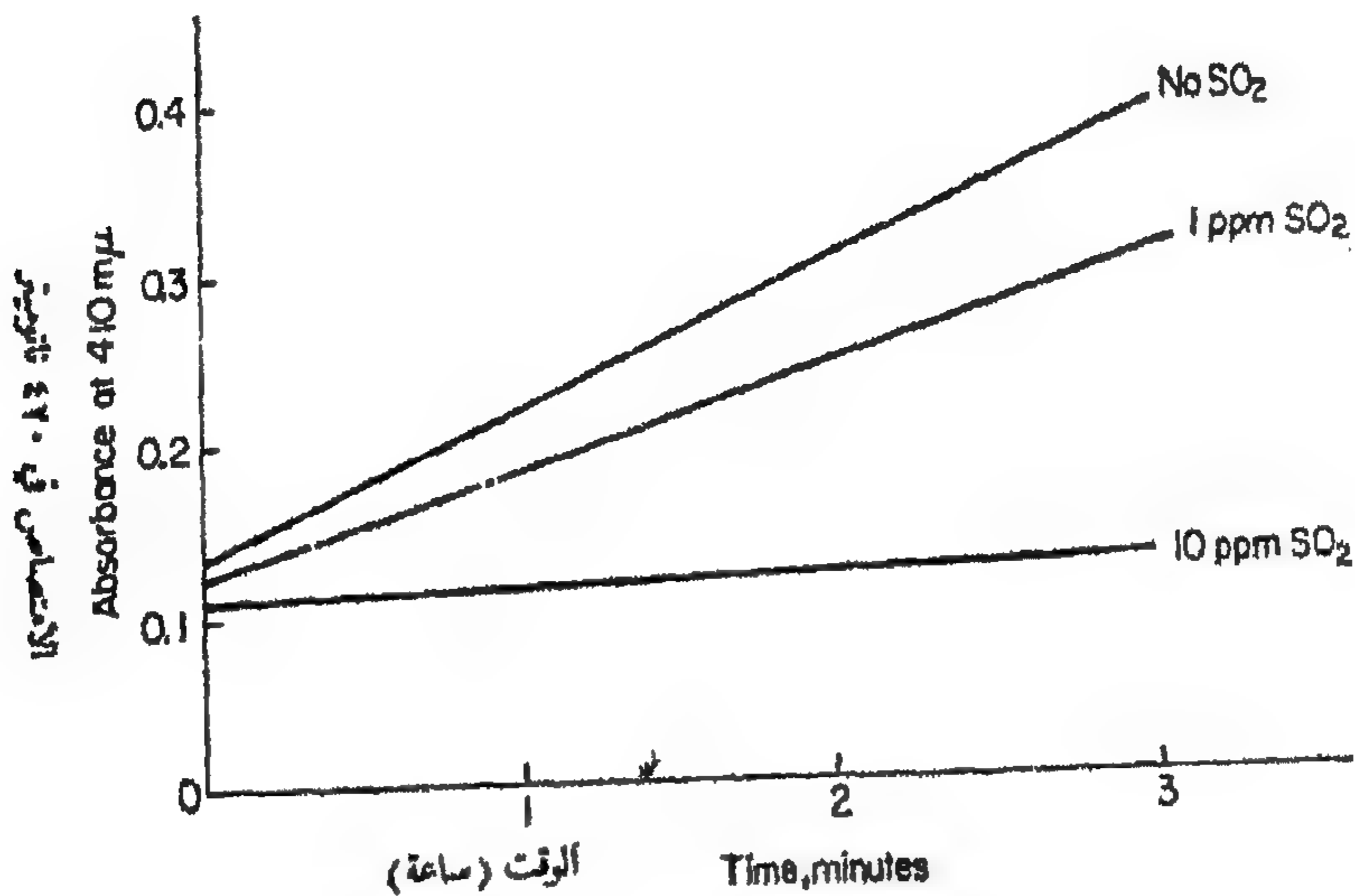
يحتاج الأنزيم Catechol methyltransferase إلى أيون المغنيسيوم بمثابة تميم العامل cofactor ويوجد في أنسجة أشجار الـ Cambial وفي العشب المسمى Panpas grass إلا أن هذه المصادر غير ملائمة للاستغلال في التصنيع الغذائي وهناك محاولات للحصول عليه من الأحياء المجهرية .

3. استعمال ثاني أكسيد الكبريت SO_2 والكبريتيت Sulfite يستعمل في تصنيع بعض الفواكه والخضار كالتفاح والخوخ والبطاطا المقطعة غاز ثاني أكسيد الكبريت أو محاليل مخففة للكبريتيت وخاصة كبريتيت الصوديوم $Na_2 S_2O_5$ ويستعمل هيدروكبريتيت الصوديوم $NaHSO_3$ أو ميتاهدروكبريتيت الصوديوم Sodium metabisulfite $Na_2 S_2O_5$ وجميعها تعمل بمثابة مثبطات لأنزيم الفينولاز Phenolase . يمكن لغاز ثاني أكسيد الكبريت النفوذ بسرعة في الفواكه والخضراوات إلا أنه الناحية العملية يفضل استخدام المحاليل المذكورة أعلاه وخاصة محلول الكبريتيت لسهولة استعمالها .

يمكن استخدام غاز SO_2 أو محلول الكبريتيت في تصنيع المنتجات الغذائية التي لا يمكن تعريضها للحرارة تجنباً للتغيرات الطارئة على قوامها أو

نكهتها كما تفيد هذه المواد في منع تفسخ الأغذية لخاصيتها المعقمة Antiseptic إضافة إلى فائدتها في حفظ فيتامين C من التلف.

وجد Ponting (1960) بأن غاز ثاني أوكسيد الكبريت مثبط لأنزيم ال Phenolase بتركيز واطئة وحتى بتركيز جزء في المليون 1PPM. وفي سلسلة من التجارب تم فيها إضافة تراكيز مختلفة من كبريتيت الصوديوم إلى كميات محددة من الكايتكول Catechol في محلول داريء Buffer وجد Ponting بأن أنزيم الفينولاز Phenolase النقي جزئيا يثبط بنسبة 2% بوجود جزء في المليون SO_2 وبنسبة 100% بوجود عشرة أجزاء في المليون شكل (2-11)

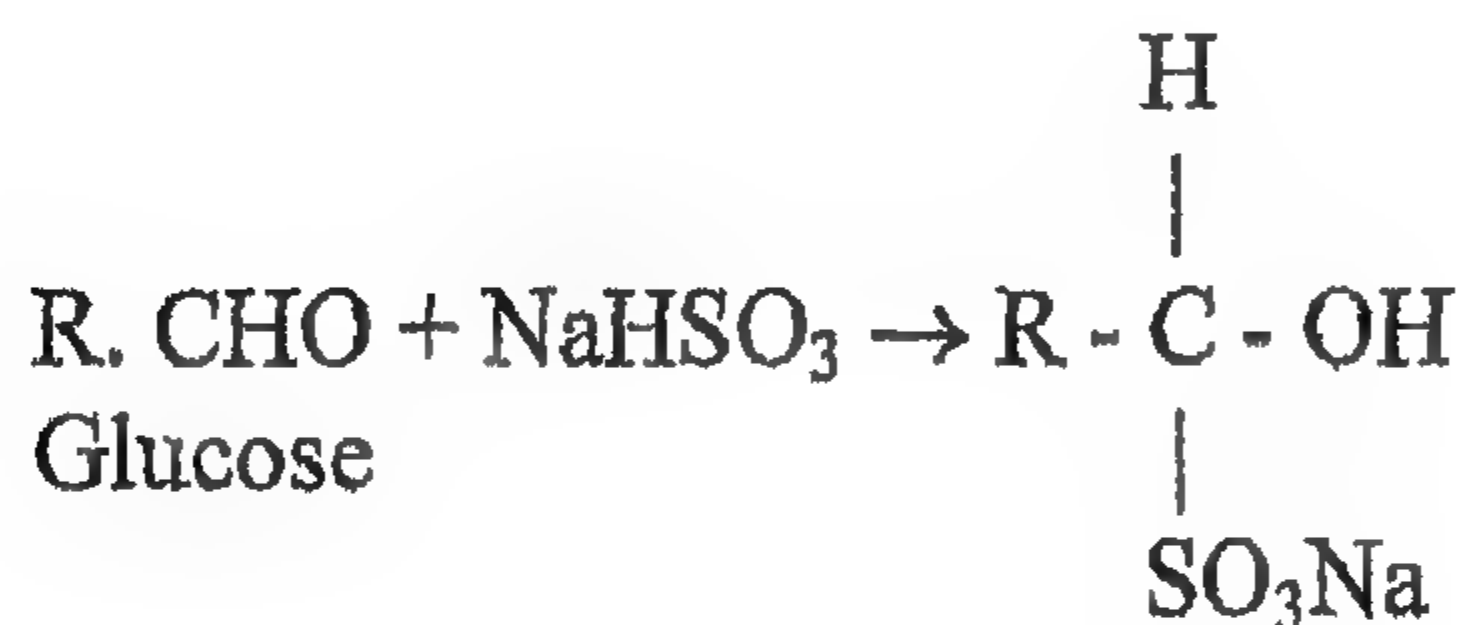


شكل 2-11 تأثير SO_2 التثبيطي لنشاط الانزيم Phenolase تمت إضافة SO_2 بشكل $NaHSO_3$ إلى أحجام ثابتة من محاليل الداريء (Buffer) الحاوي على الركيزة Catechol وأعقب ذلك إضافة الانزيم Phenolase المنقى جزئيا.

الوقت بالدقائق الامتصاص في 410 نانوميتر

وجد Mapson (1965) بأن كفاءة الكبريتيت في تثبيط الأنزيم Phenolase في شرائح البطاطا، تعتمد على الرقم الهيدروجيني للمحلول الذي توجد فيه ووجد بأن أفضل رقم هيدروجيني هو 6.0.

إن SO_2 الحر هو الصيغة الفعالة للمثبط لمنع حدوث تفاعلات الإسمرار ولقد وجد بأن بعضا منه. أو من الكبريت المضافة للأغذية- يتفاعل مع مجاميع الالدهيد أو الكيتون لتكوين مركبات مضافة Addition Compounds وبذلك لا يستطيع أن يشارك في تثبيط الأنزيم Phenolase. يتفاعل $NaHSO_3$ مثلا مع الكلوكوز ليكون Hydrxysulfonate - x كما في المعادلة الآتية:



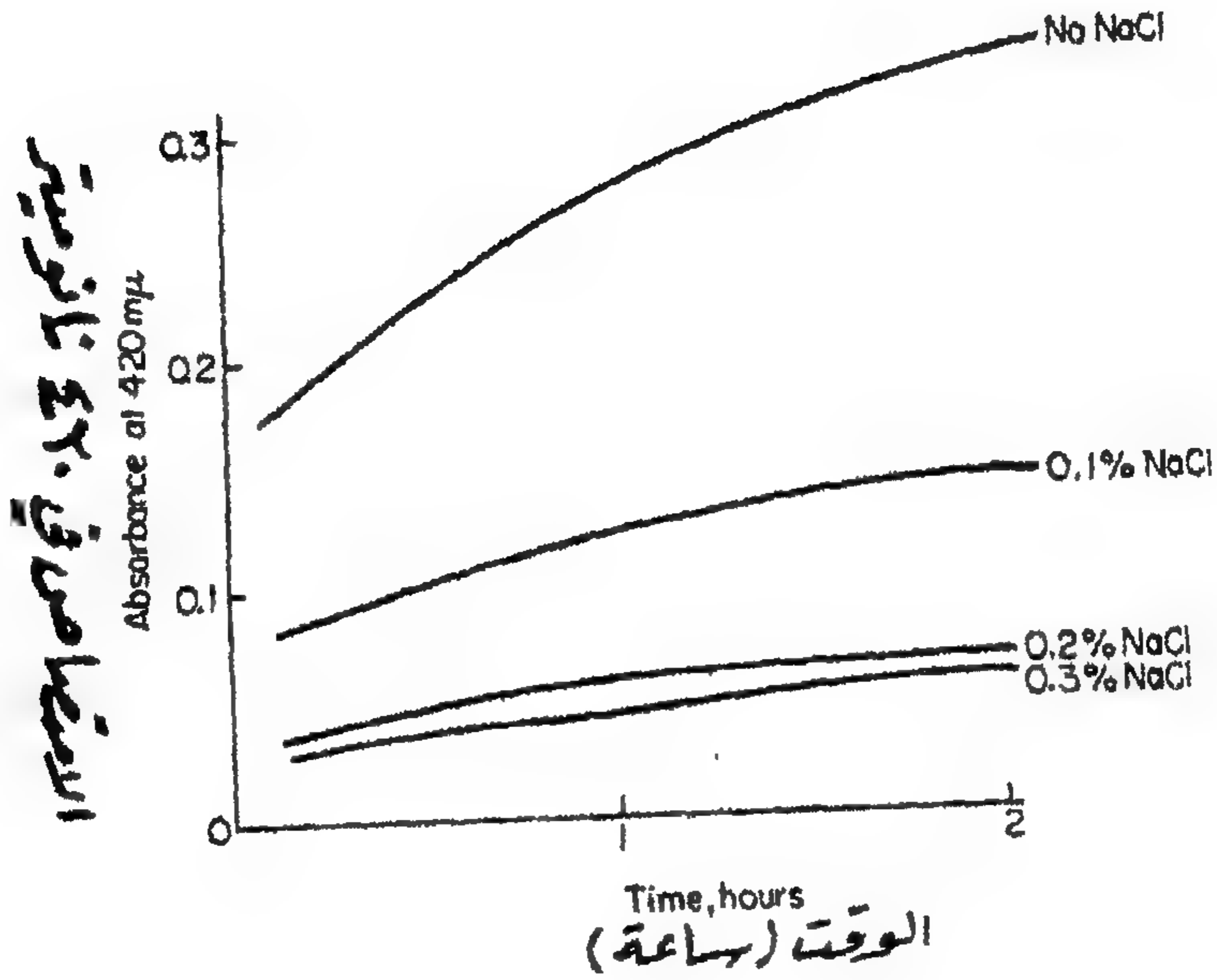
... (11-2)

ولهذا يضاف عند التصنيع الغذائي- تراكيز من الكبريتيت أو SO_2 تضمن وجود كميات كافية من هذه المواد بشكلها الحر غير المؤكسد لتثبيط فعالية الأنزيم مع مراعاة عدم الإفراط فيها لتجنب تغير النكهة.

هناك بعض المساوئ لاستخدام SO_2 أو الكبريتيت لمنع تفاعلات الإسمرار فهي تؤدي إلى تلف فيتامين B_1 Thiamine كما أنها تعجل من صدأ العلبة المستخدمة في التعليب كما قد تؤدي إلى قصر Bleaching اللون الطبيعي للأغذية إضافة إلى اكتساب المنتج الغذائي لنكهة ورائحة متميزة وغير مرغوبة. ويمكن التغلب على تغيرات النكهة بالتخلص من الفائض من SO_4 عن طريق التفريغ Vacuum، الطبخ، أو بطريقة كيميائية كاستعمال H_2O_2 .

4. استعمال ملح الطعام مثبتا لأنزيم الفينولاز Phenolase

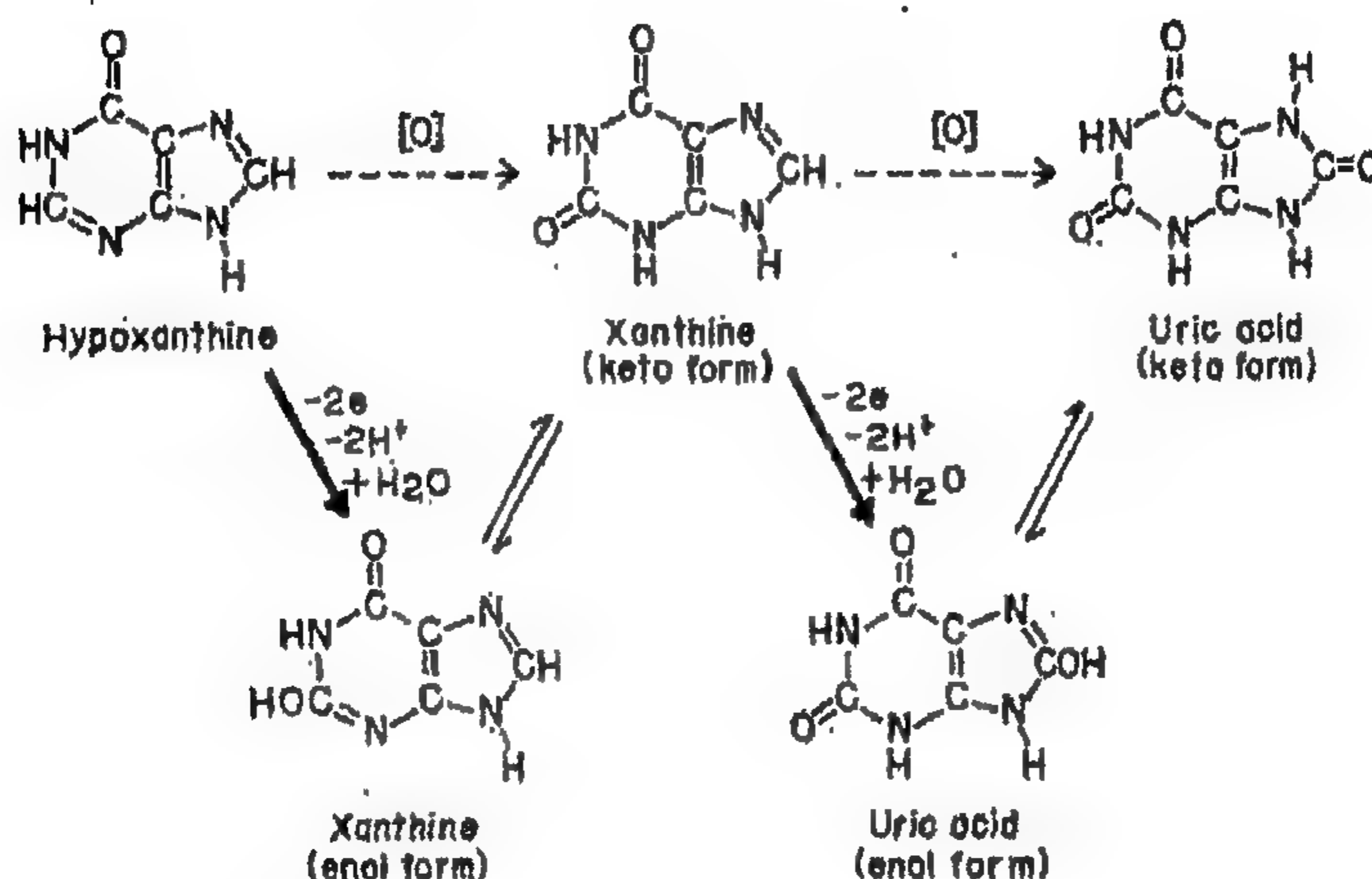
إن ملح الطعام (NaCl) فائدة محدودة في إبطاء تفاعلات الإسمرار، فعند استخدامه بتركيز تتراوح بين 0.1% و 0.3% في مزيج التفاعل الحاوي على الركيزة حامض الكلوروجنيك Chlorogenic في محلول داريء ذي رقم هيدروجيني 5.0، يثبط الأنزيم Phenolase المحضر من التفاح (شكل 2-12) إلا أن استعماله محدود بالنسبة للفواكه نظرا للتركيز الملحية العالية نسبيا غير المستساغة والواجب استخدامها للتثبيط الأنزيمي.



شكل 2-12 تأثير ملح الطعام في أكسدة المركب Chlorogenic acid من قبل إنزيم الفينولاز Phenolase المستخلص من التفاح

2-6-2 أوksيداز الزانثين Xanthine Oxidase

اكتشف هذا الأنزيم حوالي عام 1900 في أنسجة الثدييات ولقد كان يدعى Sharding Enzyme. يحفز أوksيداز الزانثين أكسدة الزانثين Xanthine والهيپوزانثين Hypoxanthine إلى حامض اليورك Uric acid كالآتي؛



شكل 2-13 تحول الزانثين والهيپوزانثين Hypoxanthine

بفعل أنزيم أوksيداز الزانثين

وفي حوالي الفترة التي تم فيها اكتشاف أوksيداز الزانثين، اكتشف أنزيم في الحليب يحفز تأكسد الالدهيدات إلى حوامض كربوكسيلية (معادلة 2-12) ولم يعرف حتى عام 1935 بأن هذا الأنزيم والأنزيم المحفز لتكوين حامض اليوريك يمثلان أنزيما واحداً ولهذا يدعى هذا الأنزيم في بعض المصادر بـ؛

Ec. 1.2.3.2. Xanthine- aldehyde oxidase

إن أوksيداز الزانثين (التسمية النظامية Xanthine-Oxygen Oxidoreductase واسع الإنتشار في الثدييات وخاصة في حليب الأبقار وكبد العجل ويمكن الحصول عليه بصورة نقية من الحليب.



غورمالدهيد ثية

حامض الفورمك

... (2-12)

يمتلك اوكسيداز الزانثين فعالية تحفيزية تجاه العديد من المركبات المانحة للإلكترونات ولهذا يسمى غيرتخصصي (Non-Specific). وتختلف سرعة الأكسدة الأنسيابية لهذه المركبات تفاوتاً كبيراً ويعد المركبان زانثين وهيبوزانثين أفضل ركيزتين للأنزيم كما في الجدول (2-3).

جدول (2-3) خصوصية الأنزيم Xanthine oxidase المستخلص من الحليب والسرع النسبية للتفاعل بوجود الركائز المختلفة.

Substrate	Relative rates	Substrate	Relative rates
Xanthine	140	Acetaldehyde	0.72
Hypoxanthine	100	Cinnamaldehyde	0.41
8-Hydroxypurine	6	Vanillin	0.01
6- Amino-2 -hydroxypurine	4.5	Glyceraldehyde	0.014
6- Amino-8 – hydroxyprine	7	p-phthalaldehyde	0.013
Adenine	6	Decanaldehyde	0.0080
2.8- Dihydroxypurine	0.6	n-Butyraldehyde	0.0060
p-Hydroxybenzaldehyde	1.3	octaldehyde	0.0002
Benzaldehyde	0.8		

يتضح من المعادلة (2-12) بأن الأوكسجين هو المستقبل للإلكترونات كما يمكن لعدد كبير من الأصباغ مثل Methylone blue و 2,6-Dichlorophenolindophenol و Triphenyltertazolum chloride و phenazine methosulfate و cytochrome و Ferricyanide ان تعمل بمثابة مستقبلات للإلكترونات في تفاعلات هذا الأنزيم.

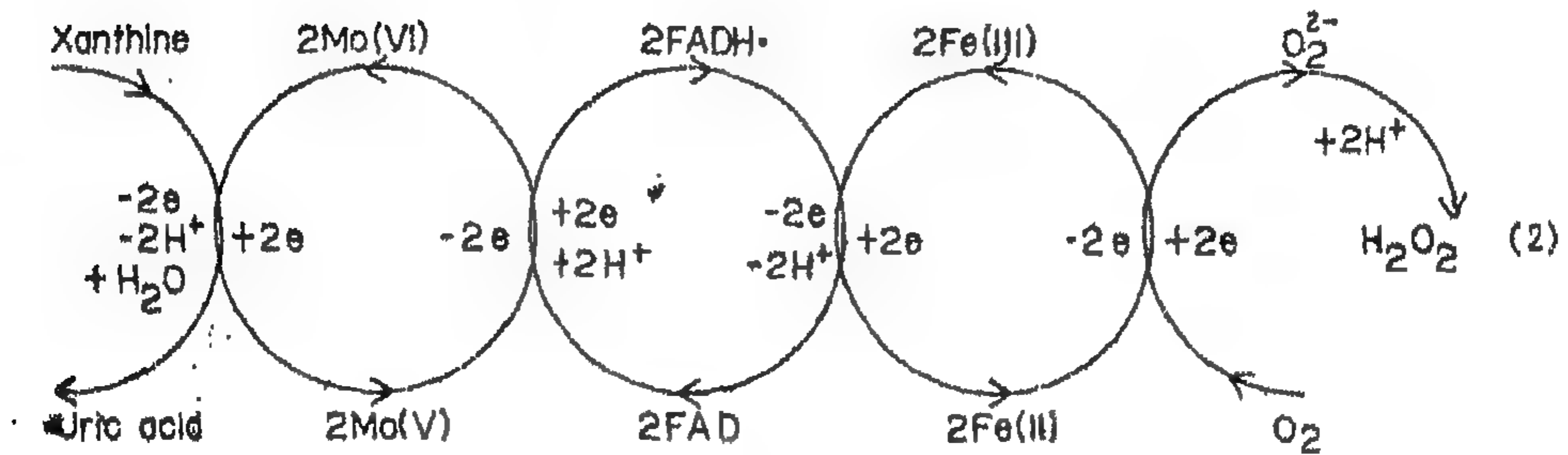
للأنزيم المستخلص من الحليب وزن جزيئي يقدر بـ 275000 ويحتوي في مول واحد من البروتين ما يلي:

2 مول FAD ، 2 غم- دري موليبدينيم (Mo) ، 8 غم- دري حديد لاهيمي Nonheme iron و 8 مول كبريتيد غير مستقر Labile sulife ويمكن للأخير (الكبريتيد) أن يتحرر بسهولة من البروتين بشكل H_2S في محيط حامضي أو عند التسخين في $V = PH$. يرتبط الفلافين وأيونات الحديد فالمولبدينوم بصورة وثيقة بالجزء البروتيني ولا يمكن إزالتها بالديال Dialysis ولكن تمسخ الأنزيم بالحرارة أو الحامض يؤدي إلى تحرر الفلافين والأيونات وينتج عن ذلك فقدان الفاعلية الأنزيمية بصورة تامة، كما يمكن إزالة الفلافين بمعاملة الأنزيم بكوريد الكالسيوم ($CaCl_2$) إذ تؤدي إلى تحلل FAD إلى FMN ضعيف الإتصال بالأنزيم وبذلك ينفصل عنه بسهولة.

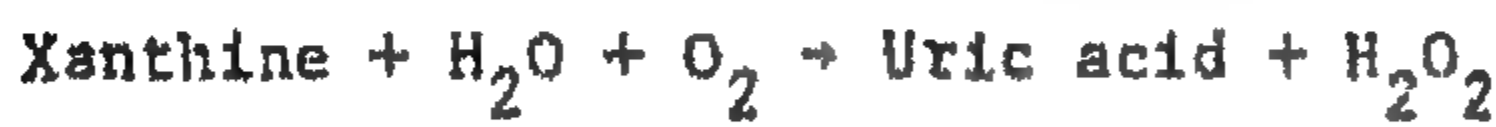
لا يعرف على وجه التحديد فيما إذا كان للأنزيم xanthine oxidase موقع نشط واحد أو إثنان ويمكن توضيح فعاليته التحفيزية في أكسدة الزانثين والهيبوزانثين بالمخطط شكل (12-14) والذي يوضح إختزال الأوكسجين الجزيئي بواسطة سلسلة لنقل الإلكترونات يساهم فيها المولبدينوم وال FAD والحديد وبالتسلسل الآتي:

إبتداء من الركيزة $-substrate \rightarrow Mo \rightarrow FAD \rightarrow Fe \rightarrow O_2$

Xanthine oxidase Isoelectric point للنزيم نقطة تساوي التكهرب للنزيم تتراوح بين 5.3 و 5.4 ويكون الأنزيم في أقصى فعاليته في الرقم الهيدروجيني 8.3. يمكن الاستفادة من هذا الأنزيم في تكنولوجيا الألبان إذ أن إزالة لون صبغة الميثيلين الزرقاء Methylene blue وتحولها إلى عديمة اللون بوجود الفورمالدهيد كمانح للإلكترونات. مؤشر جيد لطزاجة الحليب ومن جهة أخرى فإن تمسخ الأنزيم بالحرارة يؤدي إلى بقاء لون الصبغة وبذلك يعد هذا الاختبار وسيلة للتفريق بين الحليب الطازج والمغلي.



التفاعل الاجمالي Overall reaction:



14-2 الفعالية التحفيزية لأكسداد الزانثين. يوضح المخطط اختزال الأوكسجين الجزيئي بواسطة سلسلة لنقل الإلكترونات يسهم فيها المولبدنوم وFAD والحديد والتي تشكل جزءا من الأنزيم

3-6-2 أوكسداد الكلوكوز Glucose Oxidase

(β-D- Glucose: oxygen oxidoreductase: Ec 1.1.3.4)

اكتشف Muller هذا الأنزيم عام 1928 في الأعفان Aspergillus niger وpenicillium glaucum. يحفز أوكسيداز الكلوكوز أكسدة دي-كلوكوز D-glucose إلى 8-gluconolactone بوجود جزيئة أوكسجين

وهوبذلك يعد من الأنزيمات النازعة للهيدروجين هوائياً Aerobic dehydrogenase
إذ ينقل ذرتي الهيدروجين من الركيزة إلى الأوكسجين الجزيئي:

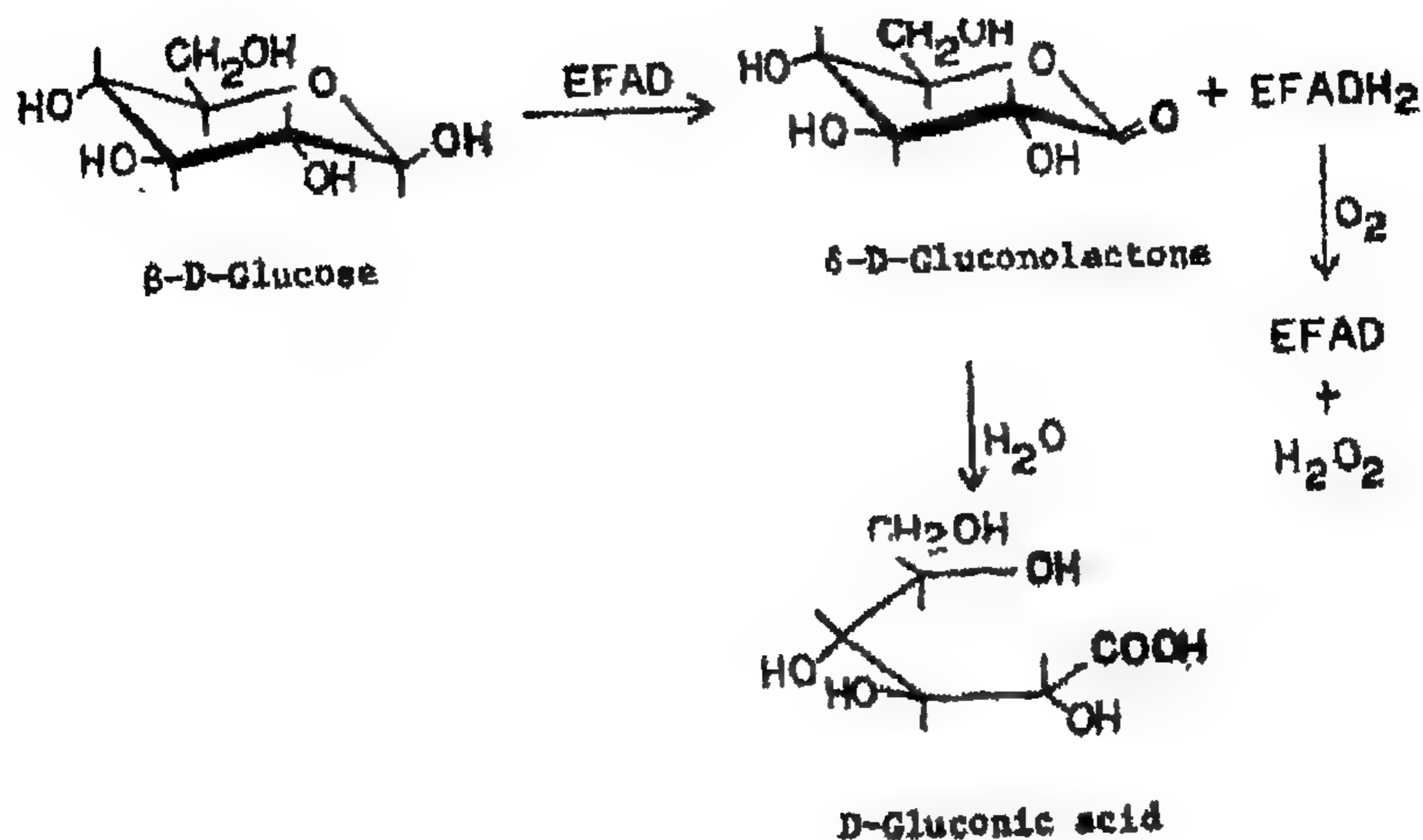


2-6-3-1 آلية التفاعل:

يرتبط الأنزيم بصورة وثيقة بالمجموعة الضميمة FAD وعندما تكون
بالصيغة المؤكسدة EFAD، تنتزع ذرتي هيدروجين من الركيزة β -D- glucose
لنتحول إلى الصيغة المختزلة EFADH₂ وينتج عن التفاعل تكوين
 δ -Gluconolac tone الذي يتحلل مائياً- وليس أنزيمياً- بعدئذ لتكوين حمض
الكلوكونك D-Gluconic.

تشير بعض المصادر إلى أنه إضافة إلى إمكانية تحليل δ -Gluconolactone
بالماء إلا أن هناك أنزيماً آخر يدعى lactonase يستطيع تحفيز التحول ذاته ويوجد
عادة في التحضيرات الحاوية على أوكسيداز الكلوكوز.

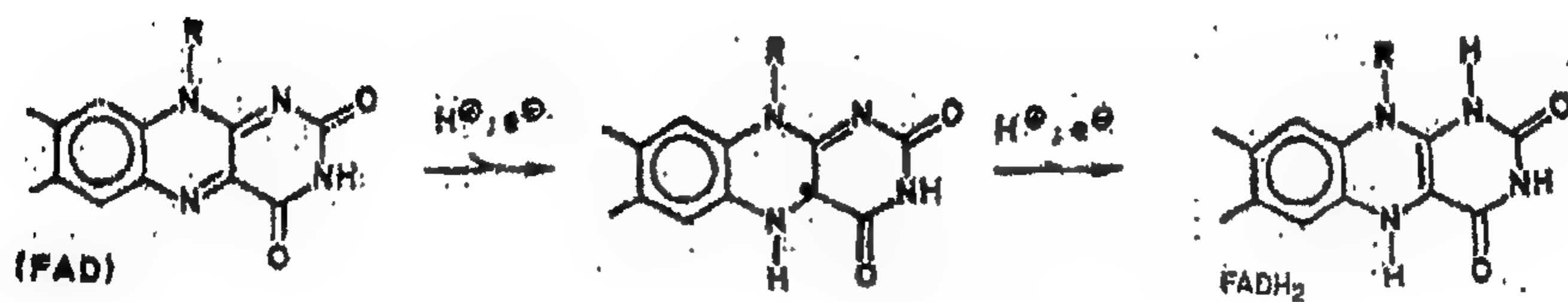
أما أوكسيداز الكلوكوز المختزل EFADH₂ فإنه يتأكسد مرة أخرى
بواسطة جزيئة أوكسجين ويمكن توضيح خطوات التفاعل بالشكل 2-15.



شكل 2-15 أكسدة B - D - Glucose بفعل الانزيم أوكسداز الزانثين EFAD

لاحظ دور المجموعة المرتبطة FAD في عملية التحفيز

إن اختزال المجموعة الضميمة FAD التي تعد Flavoquinone يتم على مرحلتين كالآتي (معادلة 2-14):

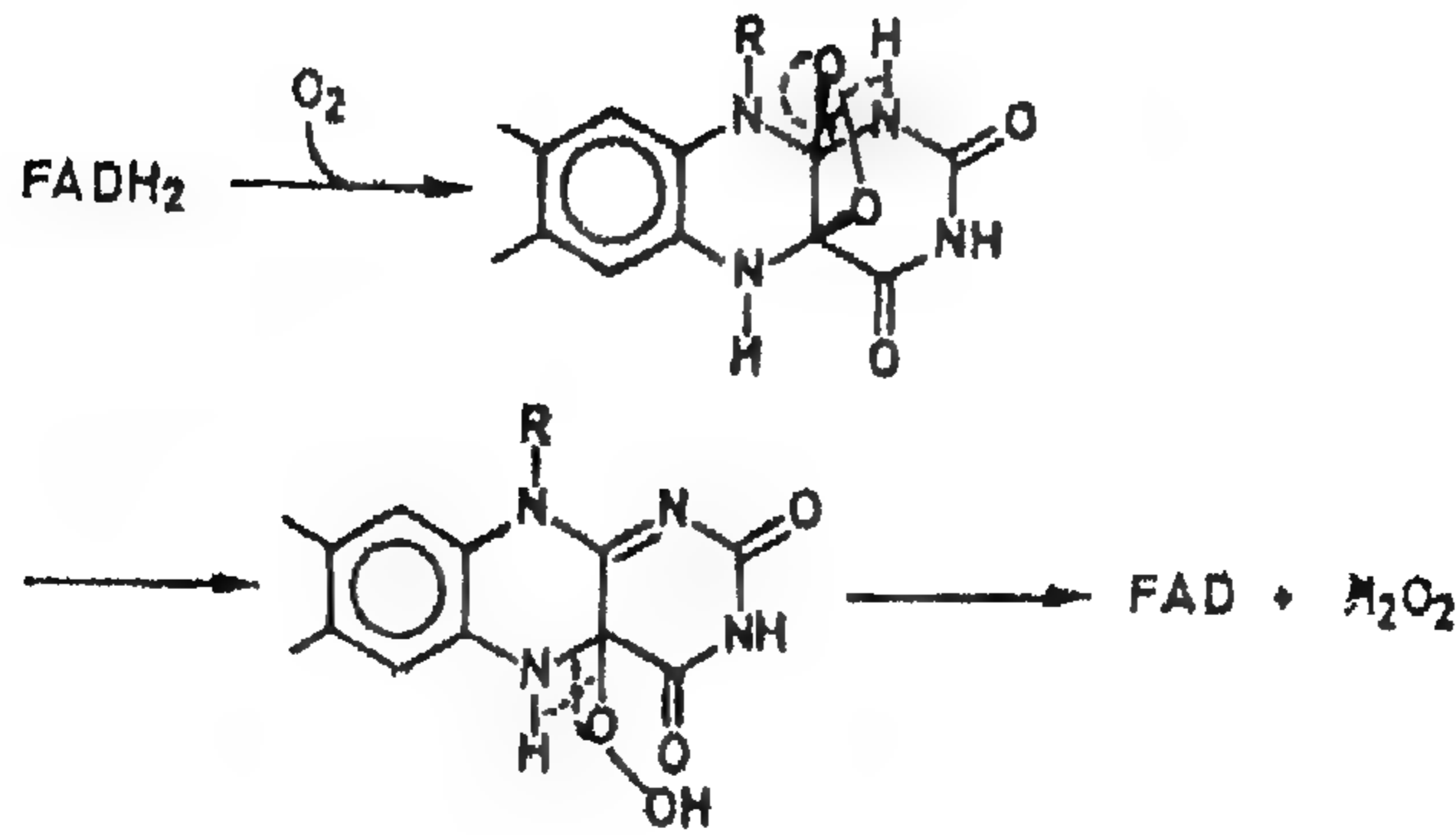


فلافو كوينون

... (2-14)

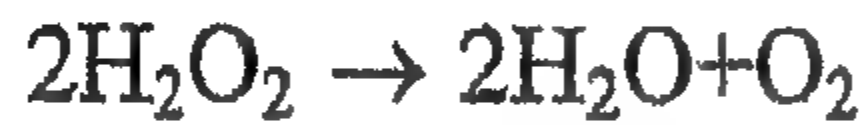
ملاحظة: تمثل R ما تبقى من الجزيئة، أنظر الفقرة 1-4-2

وعند إعادة أكسدتها، تنتقل الإلكترونات إلى الأوكسجين الجزيئي لتكوين H_2O_2 كما يأتي (معادلة 2-15).



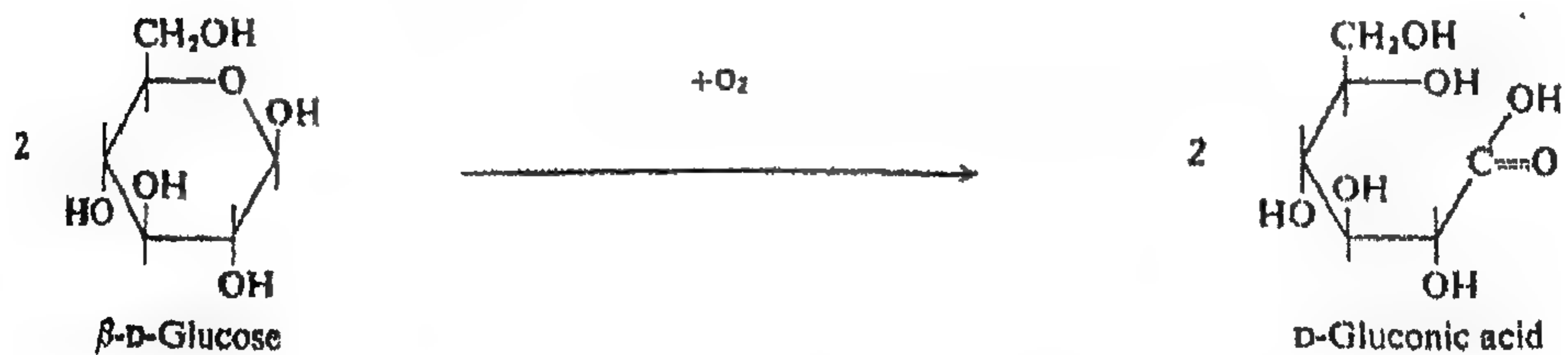
(15 -2) ...

يوجد أوكسداز الكلوكوز الخام المحضر لإنتاج حمض الكلوكونك
صناعياً كأنزيم خلوي مع الأنزيمين lactonase و Catalase. يحفز أنزيم
الكاتالاز catalase التفاعل الآتي:



(16-2) ...

وبذلك يمكن كتابة المعادلة الإجمالية للتفاعل المحفز بالأنزيمات الثلاثة
Glucose oxidase و Lactonase و Catalase كالآتي:-



2-3-6-2 الإستخدامات الصناعية:

بما أن أوكسداز الكلولوز يعمل على إزالة الأوكسجين، فإنه يضاف إلى
الأغذية التي يتأثر لونها أو نكهتها بتأكسدها نتيدة للأوكسجين. ومثال على
ذلك البيرة والنبيذ وعصير الفواكه.

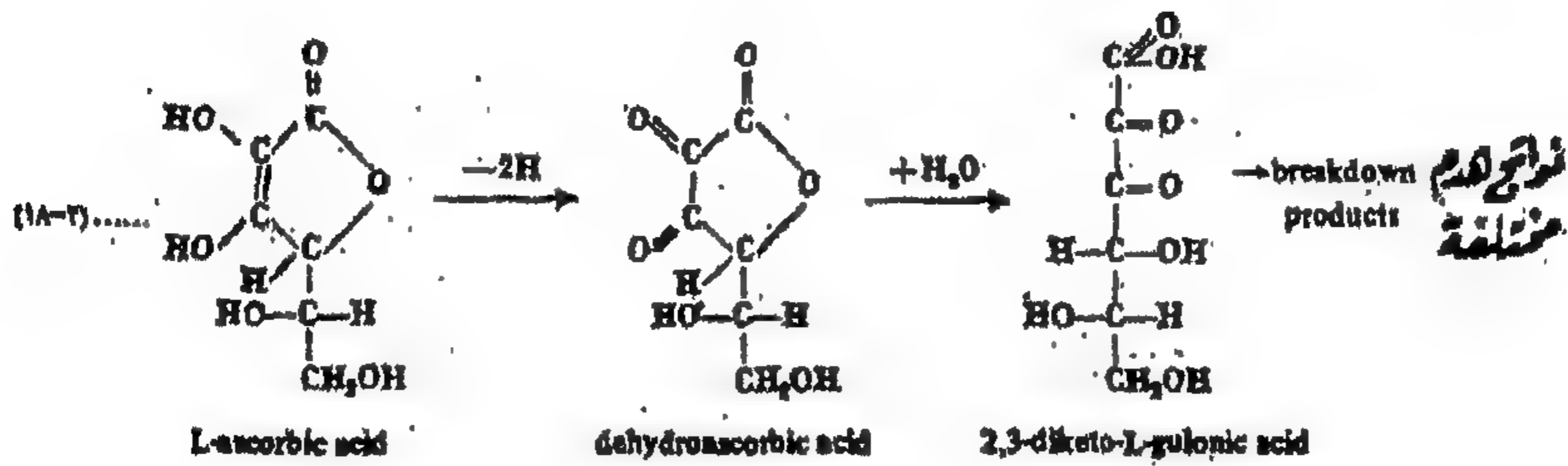
كما يستخدم هذا الأنزيم لإزالة الكميات القليلة من الكلوكوز في بعض الأغذية سابقاً لتجفيفها ذلك لأن الكلوكوز يتفاعل مع البروتينات عند التجفيف لتكوين مركبات داكنة اللون بتفاعل يسمى Maillard reaction وهذا ما يحصل عند إنتاج مسحوق البيض أو بودرة الحليب. يستخدم اوكسداز الاسكوربيك لتقدير سكر الدم.

2-6-4 اوكسداز حامض الإسكوريك Ascorbic acid oxidase

اوكسداز حامض الإسكوريك

L- ascorbate: 02 oxidoreductase; ECI.10.3.3

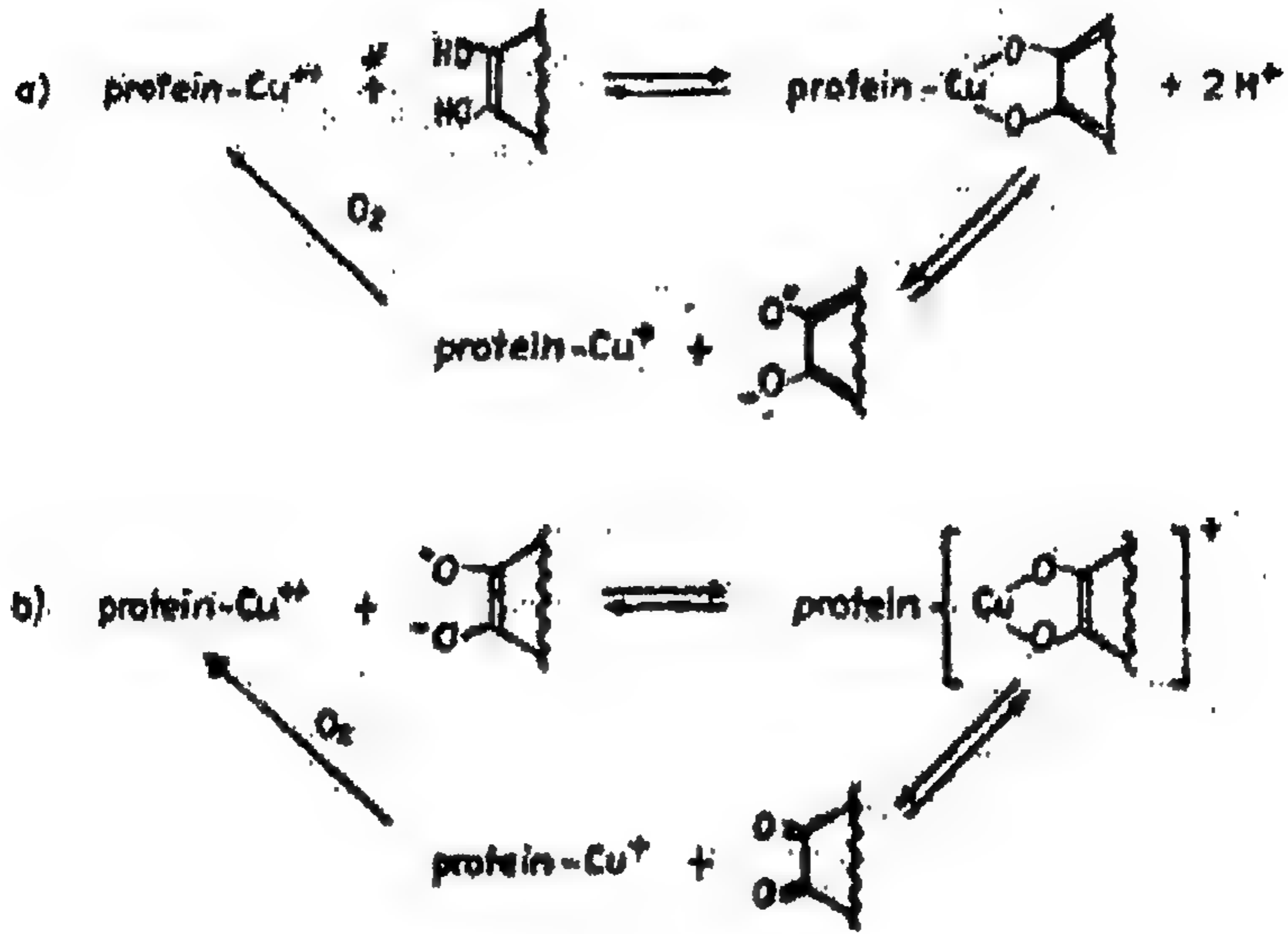
الإسكوريك إلى dehydroascorbic acid ويكون التفاعل غير عكوس نظراً لأن الناتج dehydroascorbic قلق جداً ويتحول بسهولة إلى مركبات أخرى، فمثلاً عند انفتاح حلقة اللاكتون Lactone ring يتحول إلى diketo-L- gulonic acid 2.3 ذي السلسلة المفتوحة:



وعند فقدان CO_2 وماء يتكون مركبات أخرى يمكن أن تتبلر polymerize إلى راتجات بنية Brown resing (معادلة 2-18) تكسب عصير الفواكة الحمضية وخاصة الليمون وعصير الكريب فروت Grape fruit المركز لوناً بنياً، كما تحدث الأكسدة الأنزيمية للخضراوات الحاوية على فيتامين C (حمض الإسكوريك) أثناء الحصاد أو النقل أو التخزين كالسبانخ والبازلاء والفاصوليا واللوبياء الخ.

2-4-6-1 آلية عمله :

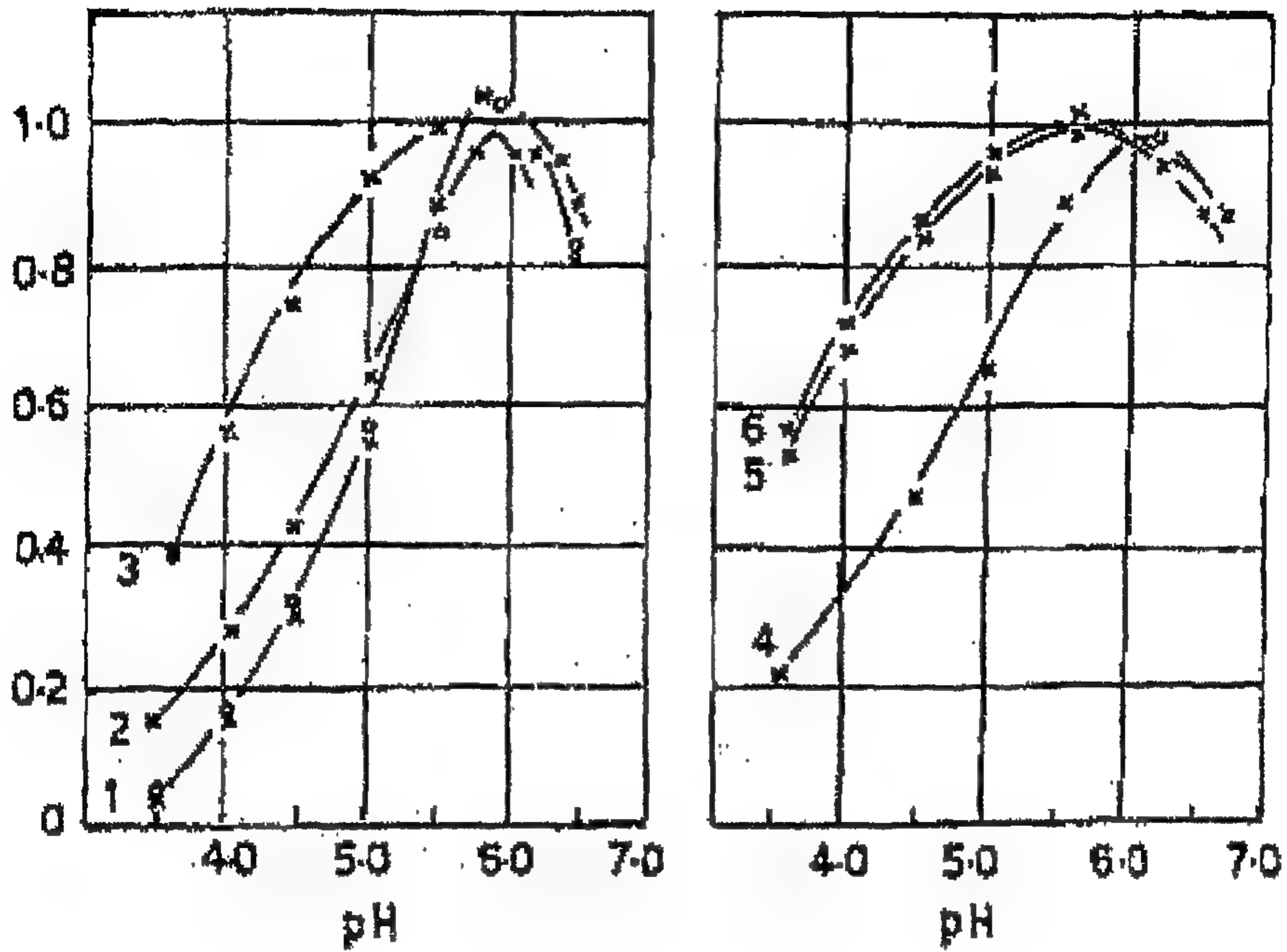
يحتوي أوكسيداز حامض الإسكوريك على أيون النحاس في الموقع النشط شأنه بذلك شأن أنزيم ال Phenolase ويمكن توضيح دور أيونات النحاس بالمخطط الآتي:-



شكل 2-16 آلية عمل الانزيم Ascorbate oxidase في تحويل حامض الاسكوريك إلى Dehydroascorbic acid ودور أيون النحاس في الموقع النشط

2-4-6-2 تأثير الرقم الهيدروجيني في نشاط أنزيم أوكسيداز حامض الإسكوريك

تظهر الفعالية القصوى لأوكسيداز حامض الإسكوريك في الرقم الهيدروجيني (5.3-6) وتنخفض الفعالية بشكل ملحوظ عند انخفاض الرقم الهيدروجيني. يوضح الشكل 2-17 علاقة الفعالية الأنزيمية بالرقم الهيدروجيني وتبعاً لمصدر الأنزيم.



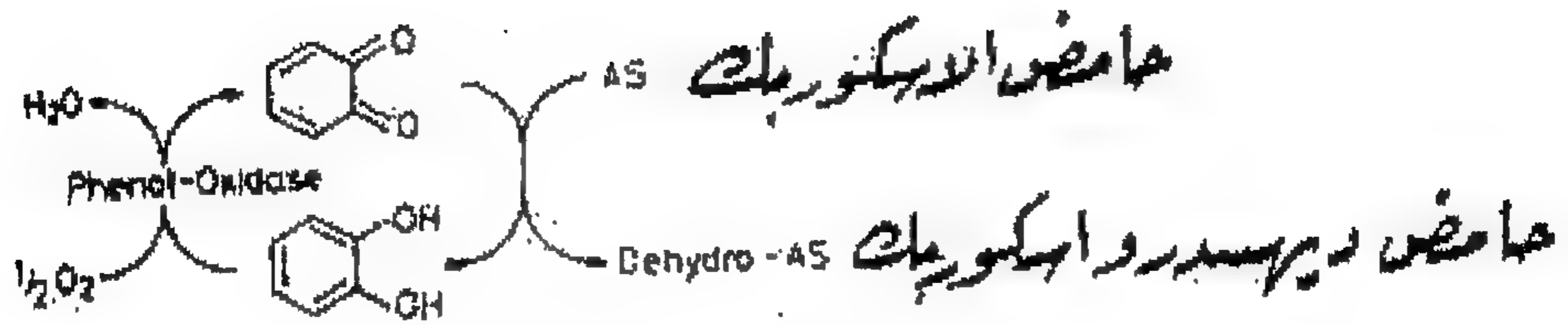
شكل 2-17 تأثير الرقم الهيدروجيني في الفعالية الأنزيمية لأوكسداز حامض الاسكوربيك المستخلص من مصادر مختلفة 1. الخيار، 2. القرع، 3. القرنبيط، 4. الكرنب، 5. اللوبيا، 6. الجزر الأصفر.

يتضح من الشكل بأن الأنزيم يفقد فعاليته عندما ينخفض الرقم الهيدروجيني إلى أقل من (3) وبهذا لا يخشى من نشاط هذا الأنزيم في الأغذية الحامضية مثل الكرنب المخلل Sauer kraut.

2-4-6-3 أكسدة حامض الإسكوريك بأنزيمات أخرى

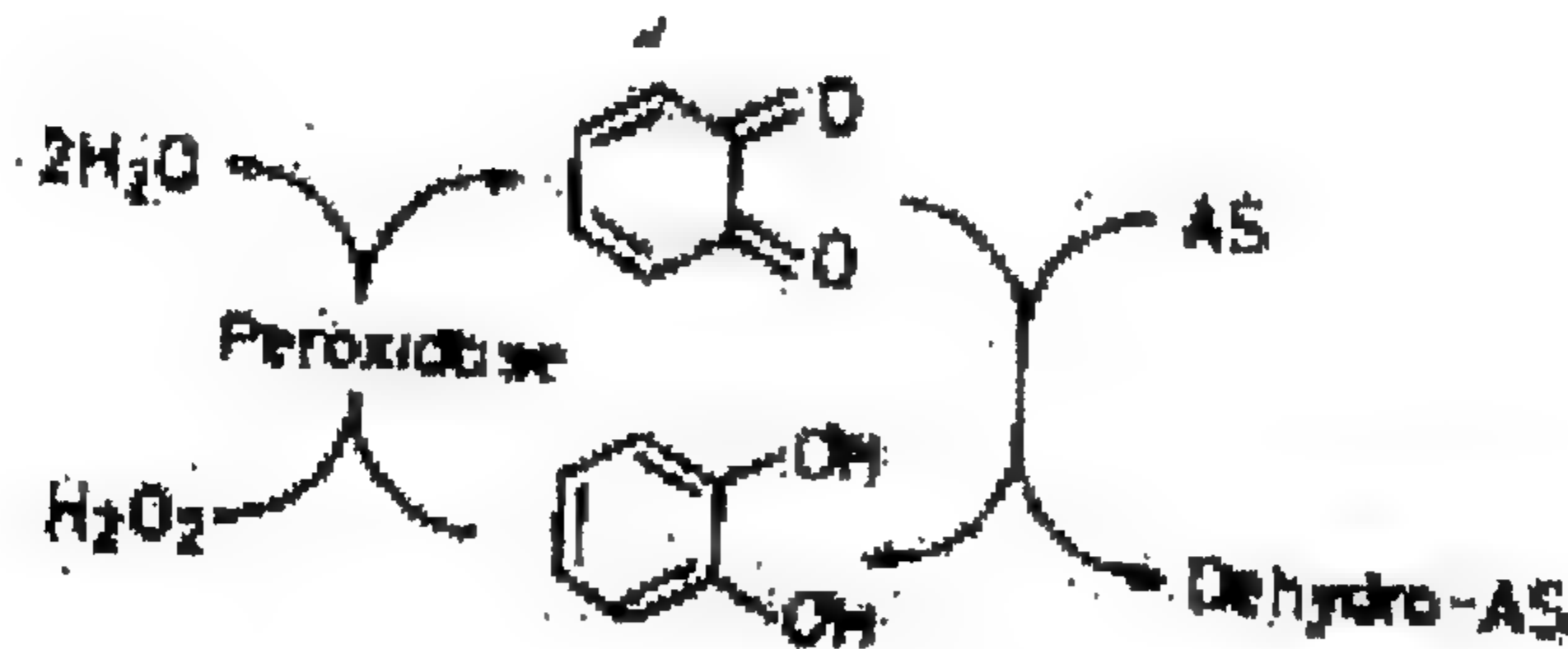
إضافة إلى أوكسداز حامض الإسكوريك، هناك أنزيمات أخرى تؤكسد حامض الإسكوريك مثل الفينولاز Phenolase؛ phenol oxidase الحاوي على النحاس والبيروكسداز peroxidase وأوكسداز الساييتوكروم Cytochrome

oxidase وكلاهما يحوي على الحديد في الموقع النشط، إلا أن هذه الأنزيمات تختلف عن أوكسداز حامض الإسكوريك الذي يؤكسد حامض الإسكوريك هوائياً. فهي تؤكسده بصورة غير مباشرة إذ ينتج عن التفاعلات التي تحفزها مركبات تعمل بمثابة ناقلات للإلكترونات مؤدية بالتالي إلى أكسدة حامض الإسكوريك كما في المعادلة التالية (2-19) للتفاعل الأنزيمي المحفز بأوكسداز الفينول



... (2-19)

وبطريقة مشابهة يعمل أنزيم البيروكسداز (معادلة 17) الذي يؤدي بسلسلة تفاعلات إلى أكسدة حامض الإسكوريك إلى Dehydroascorbic.

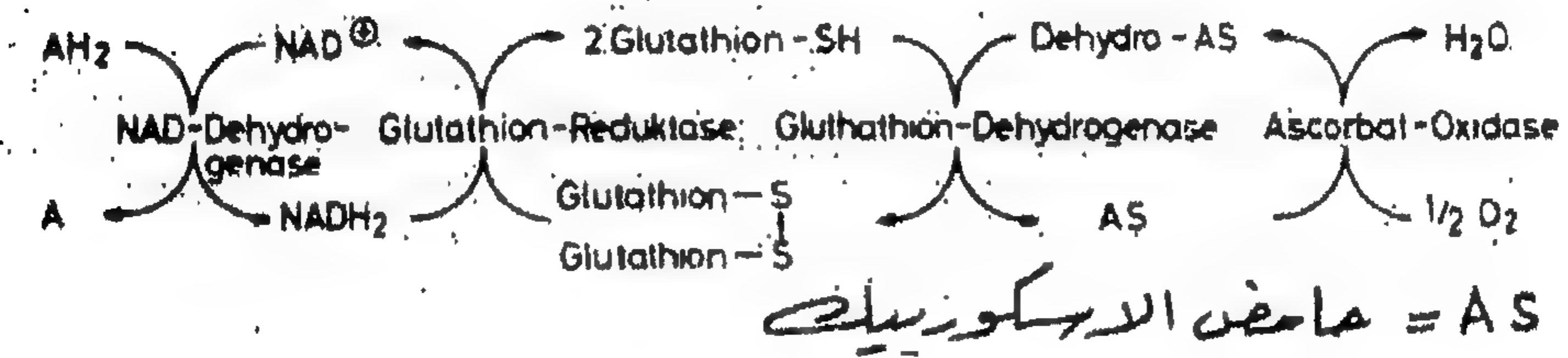


.... (2-20)

2-4-4-6 نوعية اوكسداز حامض الإسكوريك Specificity

يمكن أن يحفز اوكسداز حامض الإسكوريك أكسدة الركائز المشابهة للحامض L- Ascorbic ، فمثلا الأنزيم الموجود في البكتريا Aerobacter aerogenes يؤكسد الركيزة D- Isoascorbate أيضاً بينما لا تتأكسد مركبات الفينول و p-Cresol و pyrogallol و Hydroxyquinone و Cysteine والكلوتاثايون المختزل GSH ، Glutathione بهذا الأنزيم.

يلعب واكسداز حامض الإسكوريك دوراً مهماً في العمليات الأيضية في النباتات إذ ينقل ذرات الهيدروجين في المرحلة الأخيرة لتفاعلات الأكسدة المؤدية إلى انتزاع ذرات الهيدروجين من الركيزة المختزلة وانتقالها إلى الأوكسجين الجزئي كما في المعادلة التالية التي توضح سلسلة تفاعلات أكسدة واختزال تسهم فيها أربعة أنزيمات ابتداء بالأنزيم النازع للهيدروجين ذي المجموعة الإسكوريك:



..... (2) - (21)

2-4-6-5 الأهمية التكنولوجية

يؤدي اوكسداز حامض الإسكوريك إلى تقليل محتوى فيتامين C وينتج عن ذلك عدم استقرار لون ونكهة المنتجات النباتية مثل عصير الفواكه وخاصة إذا لم يتم سحب الأوكسجين (الهواء) منها.

إن انخفاض نسبة حامض الإسكوريك والذي يعد مانعاً للأكسدة Antioxidant يؤدي إلى فسخ المجال لنشاط أنزيمات اوكسداز أخرى مثل phenol oxidase و peroxidases. إضافة إلى الأكسدة الأنزيمية، يمكن هدم حامض الإسكوريك بأكسده بواسطة أيونات المعادن الثقيلة ويمكن منع ذلك بواسطة مواد موجودة طبيعياً في الأغذية تشكل معقدات مخلبية Chelation complexes مع هذه الأيونات وتؤدي إلى الحد من سرعة تفاعلاتها ومن هذه المواد ما يأتي:

أ- الحوامض الأمينية مثل الكلايسين Glycine والكرياتين Creatine والكرياتين Creatinine و والكلوماتك Glutamic والسستئين Cysteine.

ب- البروتينات.

ج- الحوامض الهيدروكسيلية مثل حامض الستريك Citric و حامض التارتاريك Tartaric.

د- الحوامض ثنائية الكربوكسيل مثل حامض الاوكزالك Oxalic.

هـ- البكتينات أحادية وعديدة السكريد.

و- مركبات الـ Flavenoids والـ Tannins مثل Quercitol و Anthocyanins و Catechins

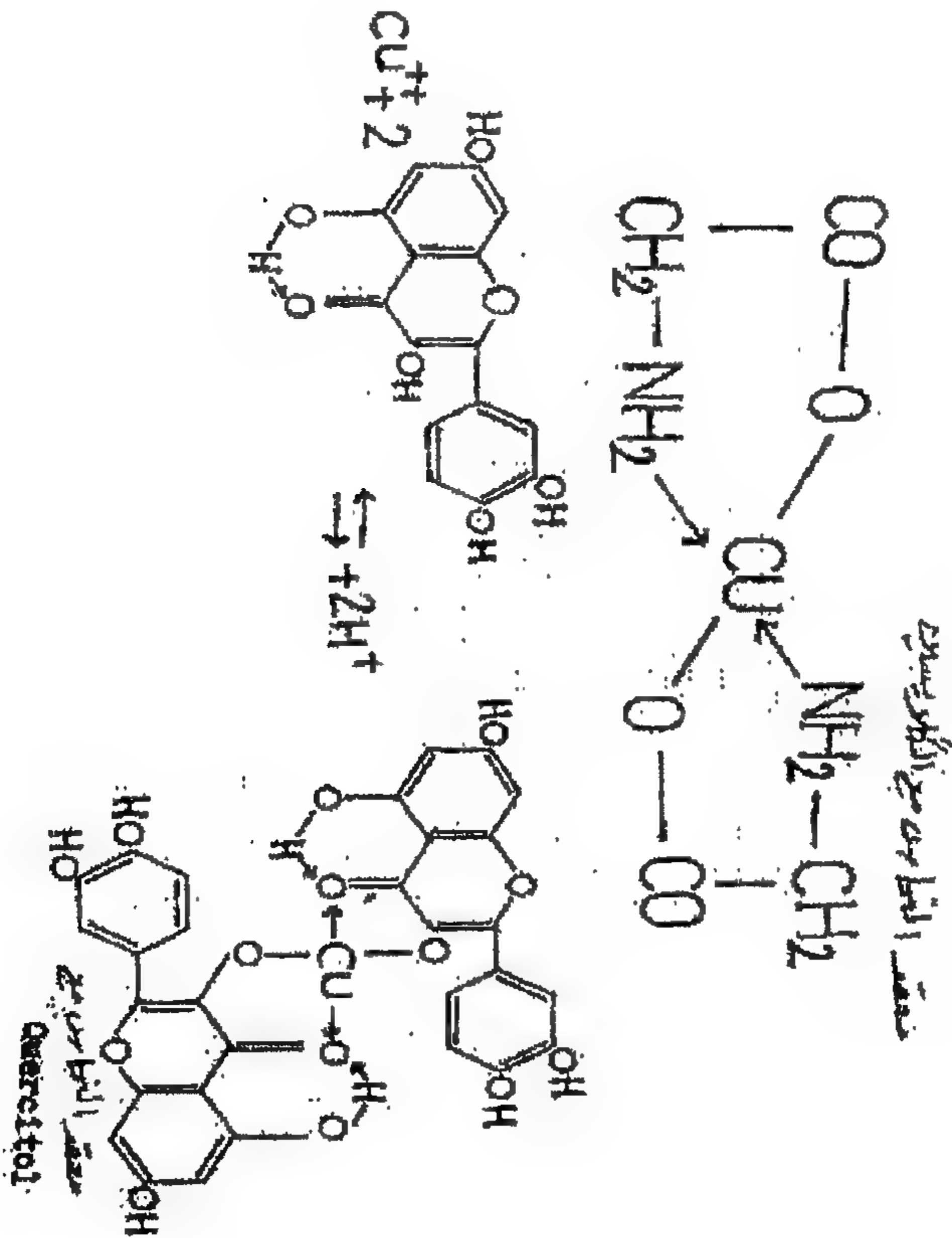
يوضح الشكل A 17-2 تكوين المعقدات المخلبية بين الكلايسين والنحاس Cupper glycinate وبين الـ Quercitol والنحاس.

إضافة إلى ما ذكر فإن محاليل البروتينات والسكريات والبكتينات تساعد بطريقة فيزيائية صرفة على التقليل من نفوذ الأوكسجين إلى داخل المنتج الغذائي وذلك لتكوين اواصر هيدروجينية بين فيتامين C ومجاميع NH_2 , OH و $\text{CooH} > \text{Co}$ الموجودة في تركيبها.

وأخيراً يمكن منع الهدم الأنزيمي لحامض الإسكوريك في الأغذية بتعريضها للماء الحار أو البخار Blanching كالمساق مثلاً.

5-6-2 البيروكسيداز peroxidase

ينتشر أنزيم البيروكسيداز: hydrogen peroxide Oxidoreductase: Donor Ec.I.II.1.7 بصورة واسعة في النباتات العليا ويوجد بتركيز عالية في نسغ التين Fig sap والفجل Horse radish كما يوجد في بعض الأنسجة الحيوانية وفي الأحياء المجهرية.



شكل A 17-2 تكون معقدات مغلبيه بين النحاس والكلايسين

وبين النحاس وال Quercitol

تمكّن Theorell عام 1943 من الحصول على بلورات هذا الأنزيم من الفجل ويمكن حالياً الحصول عليه بشكل بلوري من مصادر أخرى مختلفة. يختلف أنزيم البيروكسيداز المعزول من مصادر مختلفة في الخصائص الجزيئية، فالأنزيم المستخلص من الفجل يمتلك وزناً جزيئياً قدره 40000 في حين يمتلك بيروكسيداز الحليب وزناً جزيئياً مقداره 82000. يقاوم بيروكسيداز الفجل، درجات الحرارة العالية لصغر وزنه الجزيئي، فعند تسخينه في 85°م لمدة 30 دقيقة يفقد نصف نشاطه الأصلي فقط كما يظهر الأنزيم استقرارية Stability في مدى واسع للرقم الهيدروجيني (4-12) بينما يعمل بفعالية قصوى في الرقم الهيدروجيني 7.

2-6-5-1 أصناف أنزيمات البيروكسيداز

يمكن تقسيم البيروكسيدازات إلى الأصناف الآتية:

أ. أنزيمات البيروكسيداز الحاوية على الحديد

Iron-Containing peroxidases

توجد هذه المجموعة من البيروكسيدازات في النباتات العليا مثل الفجل والفجل الياباني Japanese radish ونسغ التين والشلغم Turnip وفي الأحياء المجهرية (peroxidase of yeast Cytochrome C).

يحتوي هذا الصنف من البيروكسيدازات على المجموعة الضميمة بروتوبورفيرين III III protoporphyrin ويمكن فصلها عن الجزء البروتيني (صميم الأنزيم) بمعاملة الأنزيم بالأستون الحامضي. تمتلك هذه الأنزيمات لونا بنياً في حالتها النقية

ب. Verdoperoxidases:

توجد هذه الأنزيمات في المايلوسايت Myelocyte ولهذا تسمى

Myeloperoxidase كما توجد في الحليب وتدعى Lactoperoxidase إضافة إلى وجودها في أنسجة مختلفة.

تشكل النواة Iron porphyrin المجموعة الضميمة لهذا الصنف من الأنزيمات عوضاً عن Ferriprotoporphyrin III الموجودة في المجموعة أ.

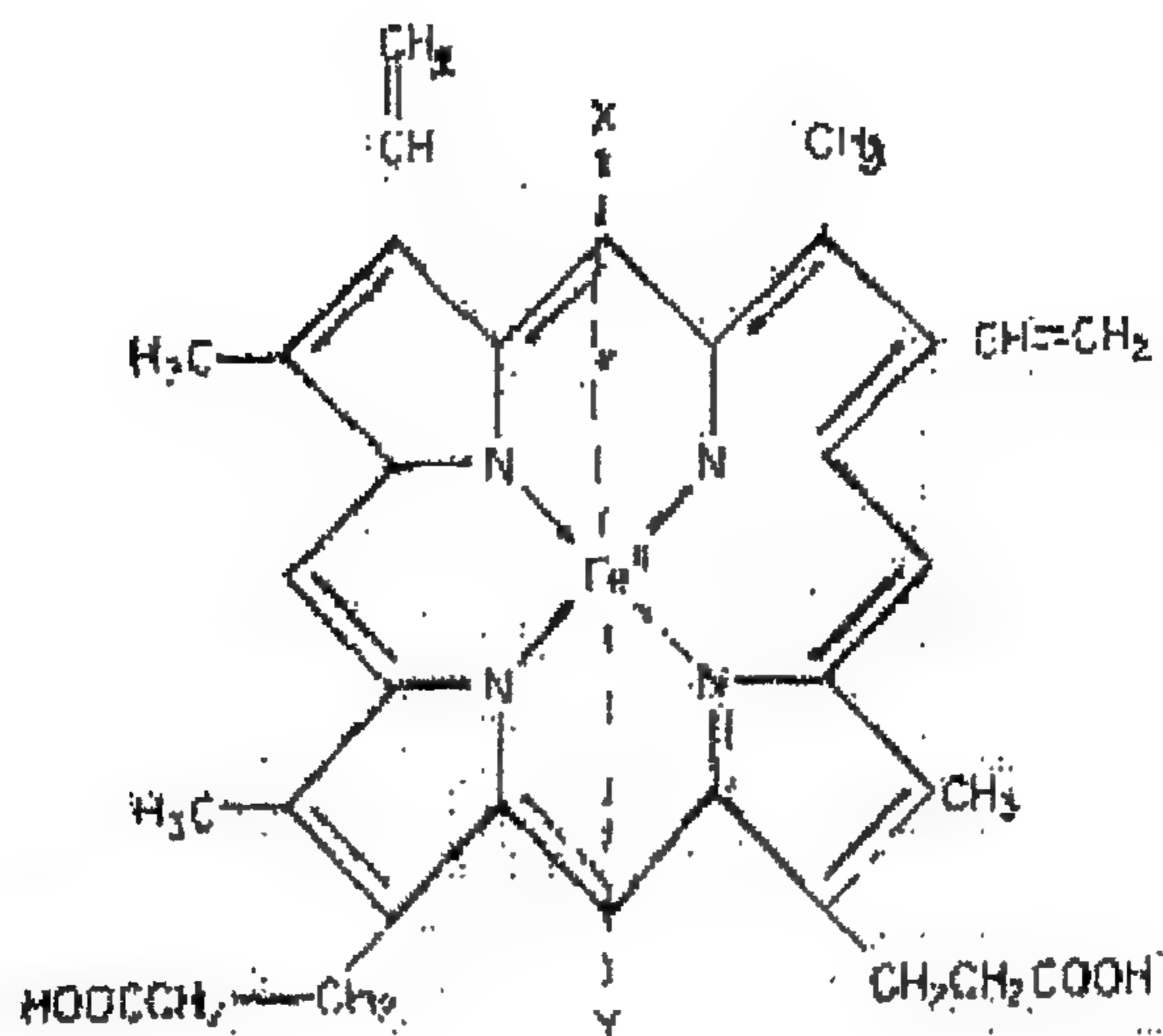
ولا يمكن فصلها بمعاملة الأنزيم بالاستون الحامضي أو بكبريتات الفضة. تمتاز الأنزيمات Lactoperoxidase و Myeloperoxidase ذات النقاوة العالية بلون أخضر لامتصاصها الضوء عند الطول الموجي 570-620 نانوميتر كما تمتص كذلك بالقرب من 4.3 نانوميتر.

ج. Flavoprotein peroxidases

تم تنقية هذا الصنف من البيروكسيدات من أنواع البكتيريا العقدية Streptococcus ومنها العقدية البرازية Streptococcus faecalis ومن العديد من الأنسجة الحيوانية. يشكل المركب FAD المجموعة الضميمة لهذه المجموعة من البيروكسيدات.

2-5-6-2 الخصائص الجزيئية لبيروكساز الفجل Horseradish peroxidase ؛

الوزن الجزيئي لبيروكساز الفجل 40000 وتحتوي الجزيئة الواحدة على مجموعة protohemin Ferri proto porphyrin III واحدة ويتضح تركيبها في الشكل (2-18).

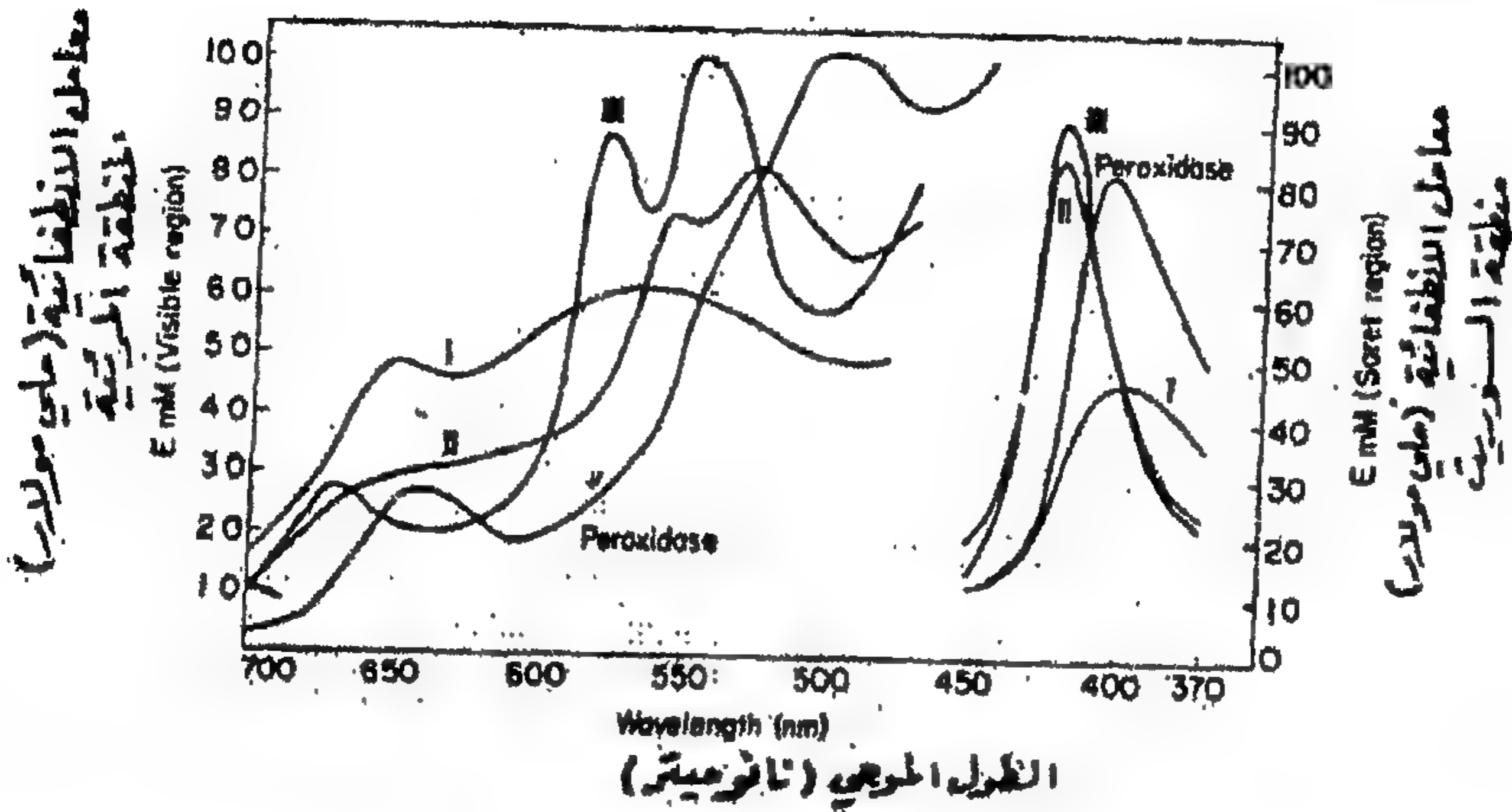


شكل 2- 18 : تركيب البروتوهيمين Protohemin; Ferriprotoporphyrin III

يتضح من الشكل وجود ست اواصر تناسقية تنقل أربع منها بالنيتروجين العائد لحلقات البيرول pyrrole rings وأما الأصرتان الباقيتان x و y فإنهما تشغلان من قبل جزيئات الماء أو مجموعة الهيدروكسيل (-OH) اعتماداً على الرقم الهيدروجيني، وعند وجود البروتوهيمين في أنزيم البيروكسداز، تتصل إحدى الاصرتين (x أو y) بمجموعة الكاربوكسيل في البروتين بينما تتصل الأخرى بمجموعة أمينو أو بالماء.

يمكن إزالة البروتوهيمين من البروتين في -15°C بمعاملة بالاستون الحامضي دون أن يؤدي ذلك إلى تفسخ البروتين إلا أن الأخير لا يمتلك فعالية أنزيمية كما يظهر البروتوهيمين وحدة نشاطاً قليلاً جداً (أقل من 0.001 %) مقارنة بنشاط البيروكسداز وعند ارتباطهما يسترد الجزء الأكبر من الفعالية الأصلية.

بالنظر لوجوج البروتوهيمين، يمتلك أنزيم البيروكسيداز قمم امتصاص عند الأطوال الموجية 403 و 497 و 641 نانومتر إضافة إلى قمة الامتصاص عند 275 نانومتر (للجزء البروتيني) شكل (2-19).



شكل 2-19 طيف الامتصاص لأنزيم البيروكسيداز ومركباته المحرصة بالبيروكسيد I) و II) و III)، يمثل مقياس حزم السوريت Soret 0.1 من مقياس المنطقة المرئية، تمثل المركبات I و II التراكييب الموضحة في الشكل (2-20). يتكون المركب III (أحمر ساطع) في التراكيز العالية لبيروكسيد الهيدروجين

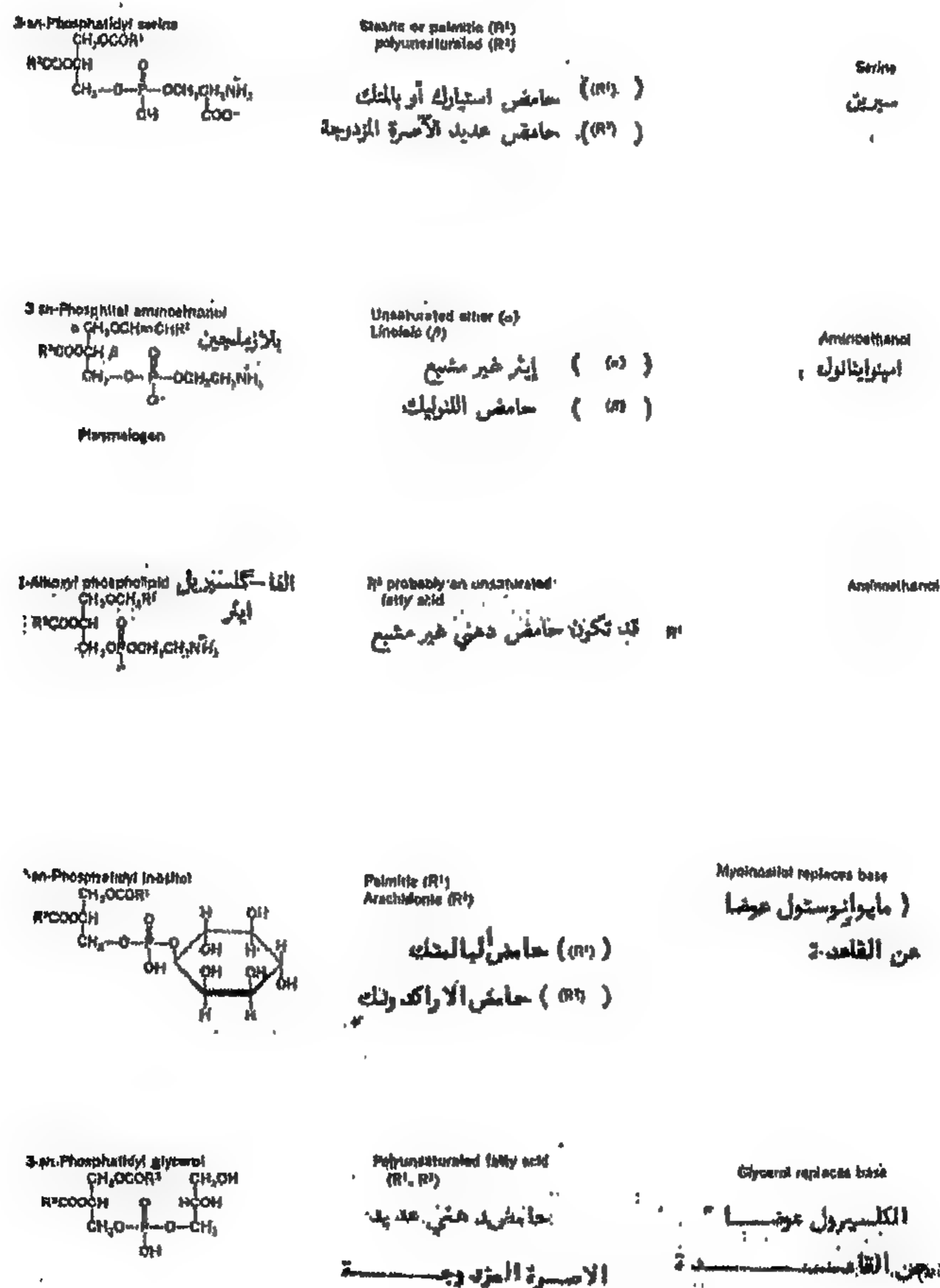
يمتلك أنزيم البيروكسيداز المتبلور الذي حصل عليه Theorell نسبة امتصاص عند 4.3 إلى 275 نانومتر مقدارها 3.04 وتسمى RZ (المصطلح مختصر Reinheitszahl باللغة الألمانية وتعني درجة النقاوة). إذن تقدر درجة نقاوة الأنزيم بقيمة RZ إلا أن هناك بعض المساويء لإستعمال هذه القيمة للتعبير عن درجة النقاوة ومنها:

أ. تشير RZ إلى درجة نقاوة التحضير بوصفه بروتينا لا أنزيميا.

ب. يتأثر الإمتصاص في 275 نانومتر بوجود أيونات الحديدك اللاعضوية Fe^{3+}

بينما تؤثر شوائب البروتينات الهيمية Haemoprotein على الإمتصاص عند الطول الموجي 403 نانوميتر.

جـ. تختلف نسبة الإمتصاص عن 403 إلى 275 نانوميتر تبعاً لمصدر أنزيم البيروكسيداز وذلك لوجود ايزوأنزيمات مختلفة متباينة في محتواها من الأحماض الأمينية الأروماتية تمتلك الصيغ الجزيئية المختلفة (ايزوأنزيمات) لبيروكسيداز الفجل قيم RZ تتراوح بين 2.50 و 4.19 (جدول 2-4).



جدول (2-4) درجة النقاوة RZ لايزوأنزيمات بيروكسيداز الفجل

الإمتصاص عند 403 نانوميتر

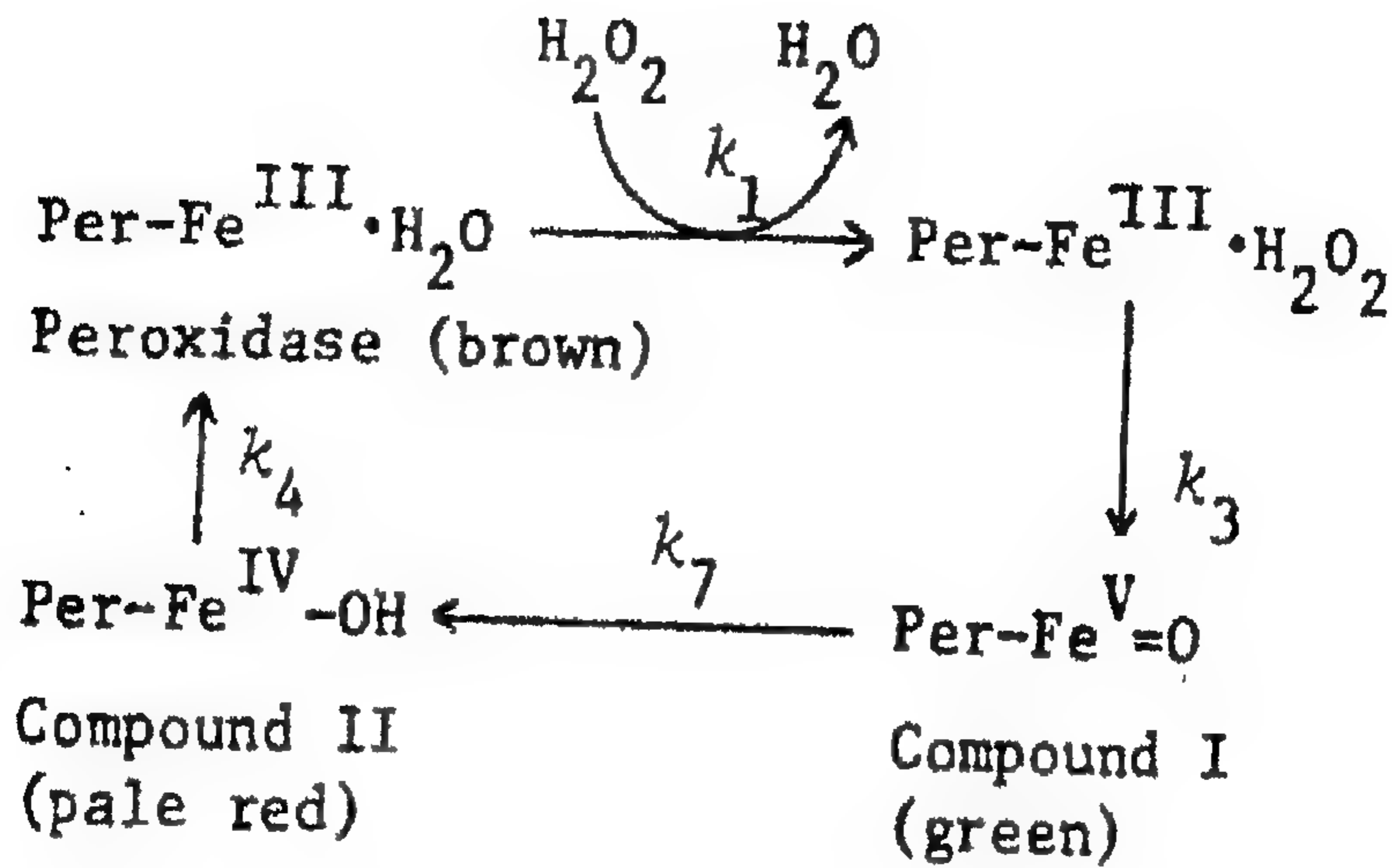
$$\frac{\text{الإمتصاص عند 403 نانوميتر}}{\text{الإمتصاص عند 275 نانوميتر}} = R_z$$

الإمتصاص عند 275 نانوميتر

Isozyme	Rz	Isozyme	Rz
A-1	4.19	C	3.42
A-2	4.12	D	2.57
A-3	3.71	E	2.50
B	3.37		

2-5-6-3 التغيرات الطيفية لأنزيم البيروكسداز الناتجة عن اتجاه بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2)

أنزيم البيروكسداز المنقى والمستخرج من الفجل ذو لون بني ويظهر طيفه عدة قمم امتصاص أعلاها Soret peak عند الطول الموجي 403 نانوميتر (معامل الانطفائية $= 1.085 \times 10$ مول⁻¹ سم⁻¹) عند إضافة زيادة طفيفة من بيروكسيد الهيدروجين إلى أنزيم البيروكسداز وفي غياب مركب مانع للهيدروجين، يتكون أنيا مركب ذو لون اخضر لا يلبث ان يتحول إلى مركب احمر شاحب وهذا بدوره يضمحل ببطء ليعطي اللون البني الاصلي كما في الشكل (2-20).



شكل (20-2) التغيرات الكيميائية الناتجة عن اتحاد أنزيم البيروكسيداز
ببيروكسيد الهيدروجين .

ان ثابت السرعة K_1 (شكل 20-2) لتكوين المركب I (Compound I) يساوي 9×10^6 مول⁻¹ ثانية⁻¹ في الرقم الهيدروجيني 4.6 ودرجة حرارة 25 °م وهذه قيمة عالية جدا إذا ما قورنت بقيمتي K_4 و K_7 (4.0 و 0.02 ثانية⁻¹ على التوالي) في حين أن ثابت السرعة K_1 من قيمة K_3 لتكوين المركب ذي اللون الأخضر. يصاحب تكوين المركبات الوسيطة المختلفة تغيرات طيفية. ان الامتصاص في منطقة السوريت Soret (عند 400 نانوميتر) اعلى بكثير منه عند الاطوال الموجية الاعلى، وعند تكوين المركب I ينخفض الامتصاص بشكل ملحوظ عند 403 و 497 نانوميتر فيما يزداد عند الاطوال الموجية الاعلى من 550 نانوميتر إذ تظهر قمة عريضة عند 575 نانوميتر وقمة أخرى عند 650 نانوميتر وهناك تغيرات طيفية أخرى مميزة لتكوين المركبات 11 و 111 (شكل 19-2)

2-6-5-4 التفاعلات المحفزة بأنزيم البيروكسيداز

يحفز أنزيم البيروكسيداز أربعة أنواع من التفاعلات

Peroxidatic Reactions

أ - تفاعلات البيروكسيد

وهي أهم التفاعلات التي يحفزها الأنزيم عند إجراء التفاعل في الزجاج in vitro بوجود مركب فينولي ويحصل التفاعل عند استخدام R-Cresol أو Guaiacol أو Resorcinol أو Aniline ... الخ بمثابة ركائز :

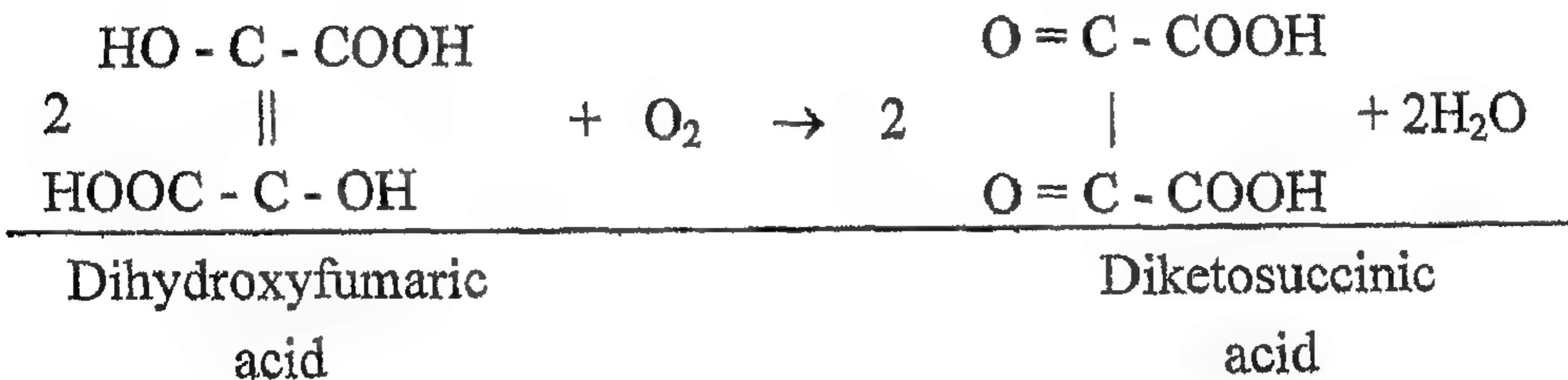


(22-2)

Oxidatic Reactions

ب- تفاعلات الأكسدة

يحفز البيروكسيداز تفاعلات الأكسدة بوجود الأوكسجين الجزيئي وعند توفر الركيزة الملائمة وكمثال Ascorbic acid ، Dihydroxy fumaric acid ، Hydroquinone ، k ... الخ .



(23 -2)

Catalatic reactions

ج- التفاعلات التحفيزية

عند غياب المادة المانحة للبروتينات، يستطيع أنزيم البيروكسيداز تحويل بيروكسيد الهيدروجين إلى H_2O و O_2 :

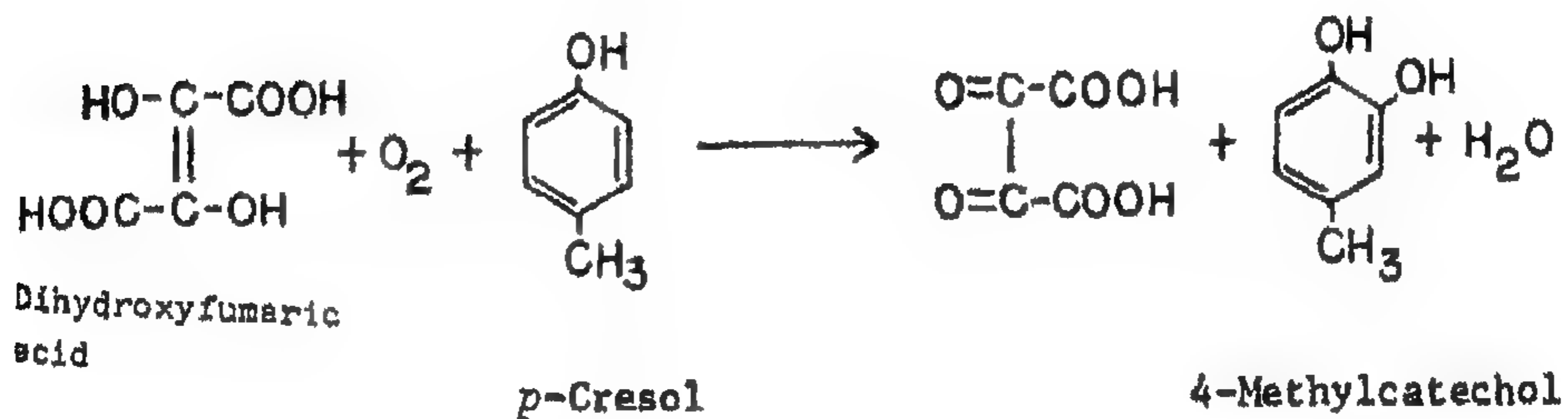


الا ان التفاعل ابطأ بكثير (حوالي 100 مرة) من تفاعلات الأكسدة والبيروأكسدة .

Hydroxylation Reactions

د- تفاعلات الهدر كسلة

عند وجود مركبات مانحة للهدروجين وخاصة Dihydroxyfumaric يمكن لأنزيم البيروكسداز أن يؤدي إلى هدر كسلة Hydroxylation مجموعة من المركبات الأروماتية بوجود الأوكسجين الجزيئي، ومن هذه المركبات Salicylic acid، Tyrosine، Phenylalanine، Benzoic acid، وحامض السالسك Salicylic acid.



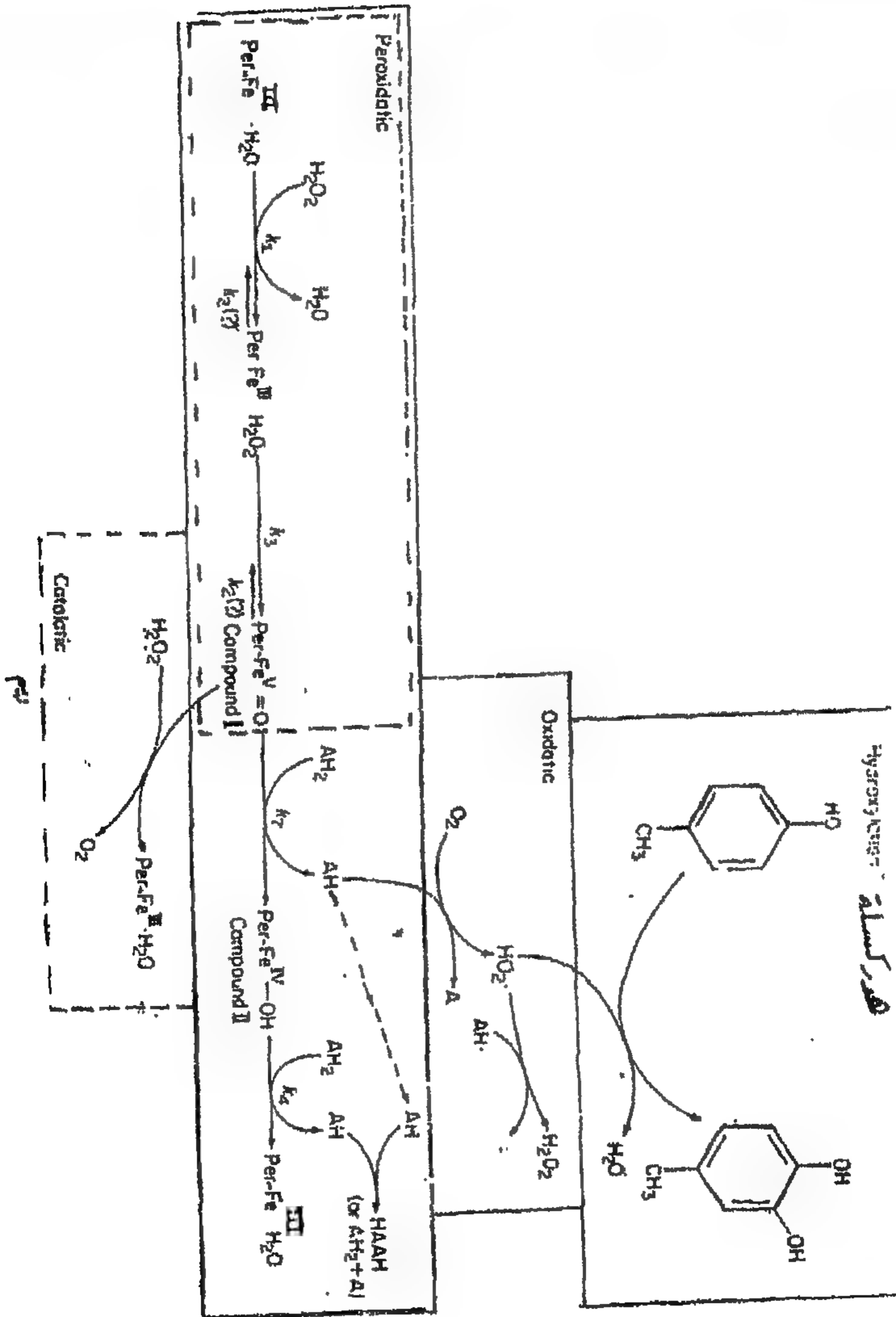
(25 -2)

2-6-5 آلية عمل أنزيم البيروكسداز

امكن استدلال على آلية عمل أنزيم البيروكسداز استناداً إلى نتائج التجارب العملية وافترضت الآلية التالية (شكل 21-2).

في الخطوة الأولى لتفاعل البيروأكسدة (شكل 21-2) تحل جزيئة H_2O_2 محل الماء في إحدى الاواصر التناسقية للحديد الموجود في البروتوهيمين لتكوين معقد الأنزيم - الركيزة ويكون التفاعل سريعاً $K_1 = 9 \times 10^6$ مول⁻¹ ثانية⁻¹ ومن الدرجة الثانية وينتج عنه تكوين معقد الأنزيم - الركيزة $\text{Fe}^{\text{III}} \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot \text{per}$.

تمثل الخطوة الثانية للتفاعل تحول المعقد $\text{per-Fe}^{\text{III}} \cdot \text{H}_2\text{O}_2$ إلى المركب -
 $\text{Fe}^{\text{I}} = \text{Cper O}^{\text{I}}$. إن ثابت السرعة K_3 للتفاعل أكبر من K_1 للخطوة الأولى وأكبر
 بكثير من ثابت السرعة K_2 لتحول المركب I إلى $\text{per-Fe}^{\text{III}} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (شكل 2-
 2.1) والذي يقدر بحوالي 0.1-3 ثانية⁻¹.



شكل 2- 21 آلية عمل أنزيم البيروكسيداز في الأنواع الأربعة من التفاعلات التي يحفزها

تتضمن الخطوة الثالثة البيروكسدة تفاعل للمركب I مع مادة أخرى مانحة للهيدروجين (AH_2) لتكوين المركب II $per-Fe^{iv}-OH$ وجذر حر AH^0 . إن سرعة التفاعل كبيرة ويكون ثابت السرعة (K_7) عادة أكبر بمقدار 40-100 مرة من ثابت السرعة للتفاعل التالي (K_4) ويعتمد ثابت السرعة على المادة المانحة للهيدروجين.

وفي الخطوة الرابعة للتفاعل: تم تفاعل المركب II مع جزيئة ثانية AH_2 مانحة للهيدروجين وبذلك يتحرر الأنزيم بصيغته الأصلية $per-Fe^{iii}, H_2O$ مع تكوين جذر حر آخر AH . يعتمد مول ثابت السرعة للتفاعل K_4 على طبيعة المادة المانحة للهيدروجين، ويستراوح بين 8×10^7 مول⁻¹ ثانية⁻¹ للمركب $p-Hydroxydiphenyl$ إلى 17 للنتريت Nitrite.

في التركيزات العالية لمعظم المواد المانحة للهيدروجين (عدا عن Hydroxy $p-diphenyl$ و $O-phenylene diamine$) تتحدد سرعة التفاعل بأكمله بالخطوة الرابعة التي يتم فيها تحول المركب II إلى أنزيم البيروكسداز.

على الرغم من إمكانية العديد من المركبات أن تعمل بمثابة مانحات للهيدروجين إلا أنه فقط لبيروكسيد الهيدروجين وبيروكسيد الميثيل وبيروكسيد الأثيل أن تتفاعل مع البيروكسداز لتكوين المركب I ويقدر ثابت السرعة K_1 لهذه التفاعلات بـ 9×10^7 و 1.5×10^6 و 3.6×10^6 مول⁻¹ ثانية⁻¹ للمركبات $HOOH$ و CH_3OOH و CH_3CH_2COOH على التوالي.

عند غياب مادة مانحة للهيدروجين، تكون سرعة تحول المركب I إلى II هي 4 ثانية⁻¹ وسرعة تحول المركب II إلى البيروكسداز 0.02 ثانية⁻¹ وتظهر الفعالية التحفيزية catalatic activity لأنزيم البيروكسداز (المعادلة 2-24) عند تفاعل جزيئة لبيروكسيد الهيدروجين بصورة مباشرة مع المركب I لتكوين البيروكسداز و H_2O و O_2 (شكل 2-21)

يعتمد مصير الجذور الحرة AH الناتجة عن تفاعل البيروكسدة على وجود O_2 وطبيعة المركبات الفينولية وكما يأتي:-

أ- إذا كان AH_2 المركب Guaiacol مثلاً، تتفاعل الجذور الحرة AH بعضها مع بعض لتعطي ناتجاً متبلمراً polymerized يرمز له HAAH كما في الشكل (21-2) ويمكن أن يعمل HAAH بمثابة مانع للهيدروجين مؤدياً إلى درجة أعلى من البلمرة.

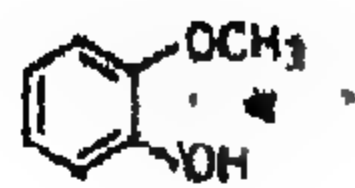
ب- إذا كان AH_2 متمثلاً بحامض الإسكوريك أو Dihydroxy Fumaric acid تتفاعل الجذور الحرة مع بعضها لإعطاء جزيئة واحدة لكل من المركب المختزل AH_2 والمؤكسد A.

ج- يمكن أن يتفاعل الأوكسجين الجزيئي O_2 مع الجذر الحر لبعض المركبات المانحة للهيدروجين وكمثال Dihydroxy Fumaric acid لإعطاء جزيئة من المانح المؤكسد وجذر HO_2 ، والتي تتفاعل بدورها مع جذر AH بغياب مركب اروماتي لإعطاء $A + H_2O_2$ (انظر تفاعل الأكسدة شكل 21-2).

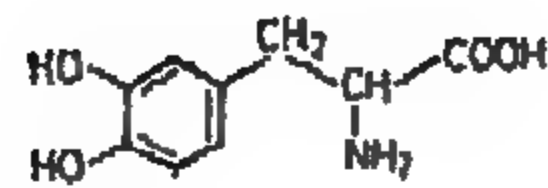
د- عند وجود بعض المركبات الأروماتية، يستطيع الجذر HO_2 هدر كسلة Hydroxylation المركب (معادلة 25-2 وشكل 21-2 تفاعل الهدر كسلة) وعلى هذا الأساس فإن فعالية الأكسدة والهدر كسلة للبيروكسداز لا تنتج عن الفعالية المباشرة للبيروكسداز وإنما تحصل من خلال تفاعلات ثانوية متسببة عن تكوين جذور HO_2 الحرة.

2-6-5-6 تقدير نشاط أنزيم البيروكسداز

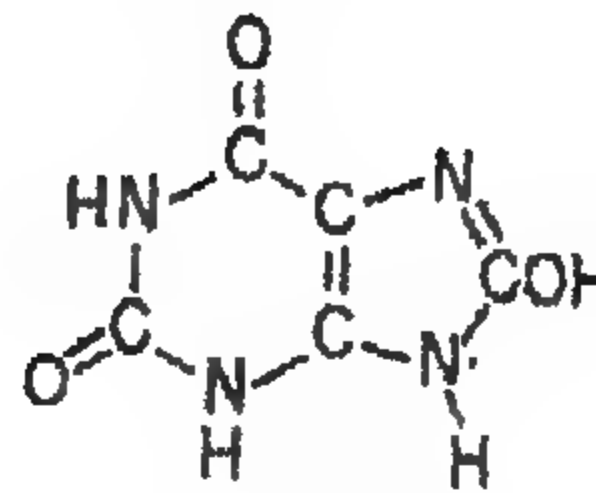
تشمل الطرق المعتدة لتقدير نشاط الأنزيم على استخدام مركبات مانحة للهيدروجين مثل Guaiacol و pyrogallol وسائتوكروم C وحامض اليورك و- Dihydroxyphen Ylalanine (شكل 22-2).



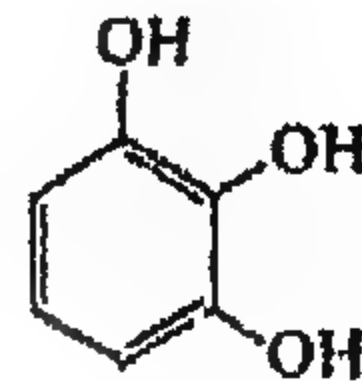
گواياكول



3,4-Dihydroxyphenylalanine



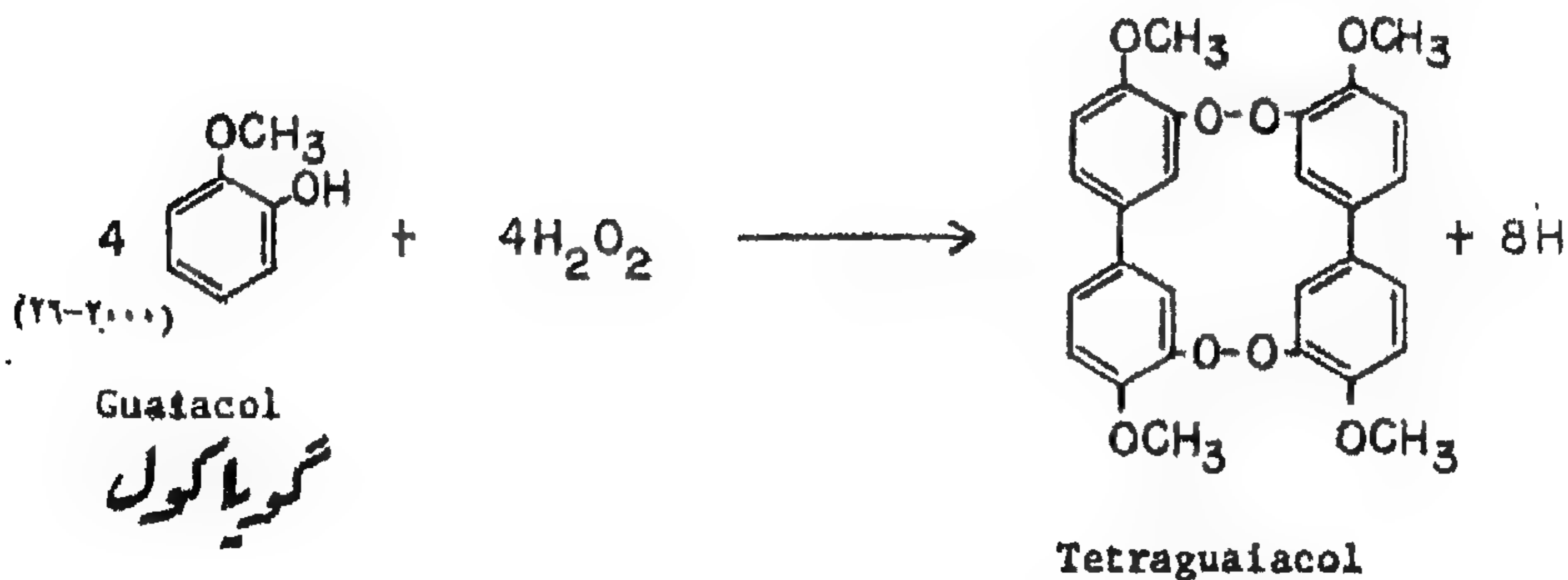
Uric acid



Pyrogallol

شكل 2- 22 تركيب بعض ركائز أنزيم البيروكسيداز والمستخدمة كمانحات للهيدروجين

إلا أن أكثر الطرق شيوعاً تلك المستخدمة للمركب Guaiacol وذلك لسهولة استخدامها. يضاف المركب Guaiacol و H_2O_2 إلى المحلول الداريء Buffer في الرقم الهيدروجيني (7) ثم يضاف أنزيم البيروكسيداز لبدء التفاعل وتقاس الزيادة في الإمتصاص مع الزمن عند الطول الموجي 470 نانوميتر. يمثل tetra guaiacol الناتج الرئيسي للتفاعل.



ويمكن حساب كمية H_2O_2 المستهلكة في التفاعل من معامل الإنطفائية المولاري Em للناتج tetra guaiacol (10×2.66 مول⁻¹ سم⁻¹ عند 470 نانوميتر) والتغير في الإمتصاص.

2-6-5-7 أهمية البيروكسيداز التكنولوجية

إن أنزيم البيروكسيداز شديد المقاومة للحرارة ولذا يستعمل مؤشراً لكفاءة عملية السلق إذ يحتفظ بنصف فعاليته الأصلية عند معاملته بدرجة 85°م لمدة 32 دقيقة. وأن للأنزيم أهمية كبيرة في تقييم عمليات التصنيع الغذائي الأخرى المستخدمة للحرارة كالتجفيف والتعقيم وهكذا يدل كشف البيروكسيداز السالب Negative peroxidase test على استخدام كمية من الحرارة كافية لإيقاف نشاط الأنزيمات الأخرى غير المرغوبة مثل polyphenol oxidase و Catalase و Lipoxigenases و Ascorbic acid oxidases و Lipases مما يضمن الإقلال من التغيرات غير المستساغة للأغذية كتغير اللون والنكهة (الطعم والرائحة) في أثناء التصنيع أو التخزين.

يلعب أنزيم البيروكسيداز- إضافة إلى أنزيمات phenol oxidases دوراً مهماً في إنتاج المركبات الملونة والمواد النكهة عند اختمار كل من الشاي والتبغ. يكتسب التبغ لوناً بنياً نتيجة لتغيرات تأكسدية في الجزء الكريوهيدراتي Aglycone للمركب Rutin وأما صبغة الشاي الأسود، فإنها تنشأ من التانينات Tannins وكلا العمليتين ناتج عن نشاط الأنزيمين معاً: peroxidase و phenol oxidase.

2-6-6 الكاتالاز

Hydrogen peroxide: hydrogen peroxide Oxidoreductase. Ec.

1.11.1.6 (Catalase)

يوجد هذا الأنزيم في الحيوانات والنباتات والأحياء المجهرية ولقد أمكن تنقيته من جميع هذه المصادر. استطاع Samner و Dounce عام 1937 تحضير بلورات الكاتالاز من كبد الأبقار وتبعهما آخرون في بلورته من مصادر مختلفة.

1-6-6-2 البروتين والمجموعة الضميمة protein and prosthetic Group

تمتلك أنزيمات الكاتالاز وزنا جزيئيا يقارب 240.000 وتحتوي أربع مجاميع بروتوهيمين لكل جزيئة أنزيمية تتكون الجزيئة من أربع دون وحدات Subunits تحتوي كل منها على مجموعة بروتوهيمين واحدة. ويظهر بأن كلا من المواقع النشطة الأربعة، للأنزيم تعمل بمعزل عن الأخرى يظهر طيف الكاتالاز قمة امتصاص عند 406 نانوميتر نظرا لوجود مجموعة Ferriprotoporphyrin III (شكل 2-18) ويكون

الامتصاص عند 280 نانوميتر

مقاربا إلى واحد لجميع أنزيمات

الامتصاص عند 406 نانوميتر

الكاتالاز التي تم دراستها.

بالنظر لتكوين أنزيم الكاتالاز من دون وحدات فإنه لا يقاوم الحرارة وبذلك يختلف عن البيروكسداز. يفقد أنزيم الكاتالاز نشاطه بسرعة في 35°م في حين يكون البيروكسداز مستقرا في 65-70°م في الرقم الهيدروجيني المقارب إلى (7). وأن الأنزيم أقل استقراراً في الأوساط القاعدية ذات الرقم الهيدروجيني الأعلى من (9) وذلك بسبب تفارق Dissociation دون وحداته.

لا يرتبط البروتوهيمين إلى الجزء البروتيني بأصرة تساهمية ولهذا يمكن إزالته بمعاملة الأنزيم بالاستون الحامضي، ويمكن ملاحظة الأهمية المتبادلة للمجموعة الضميمة والبروتين من السرعة النسبية لتحلل بيروكسيد الهيدروجين بوجود وبغياب الأنزيم. إن رقم التحول Turnover number للتفاعل الأنزيمي 9×10^4 (بوجود 10^{-2} مولار H_2O_2) وللتفاعل غير الأنزيمي 00.05 أو 22.7 بوجود hemin phosphate وأملاح الحديدك والمعقد المخلبي chelate للحديد مع Triethylene tetramine على التوالي.

2-6-6-2 التفاعلات المحفزة بأنزيم الكاتالاز

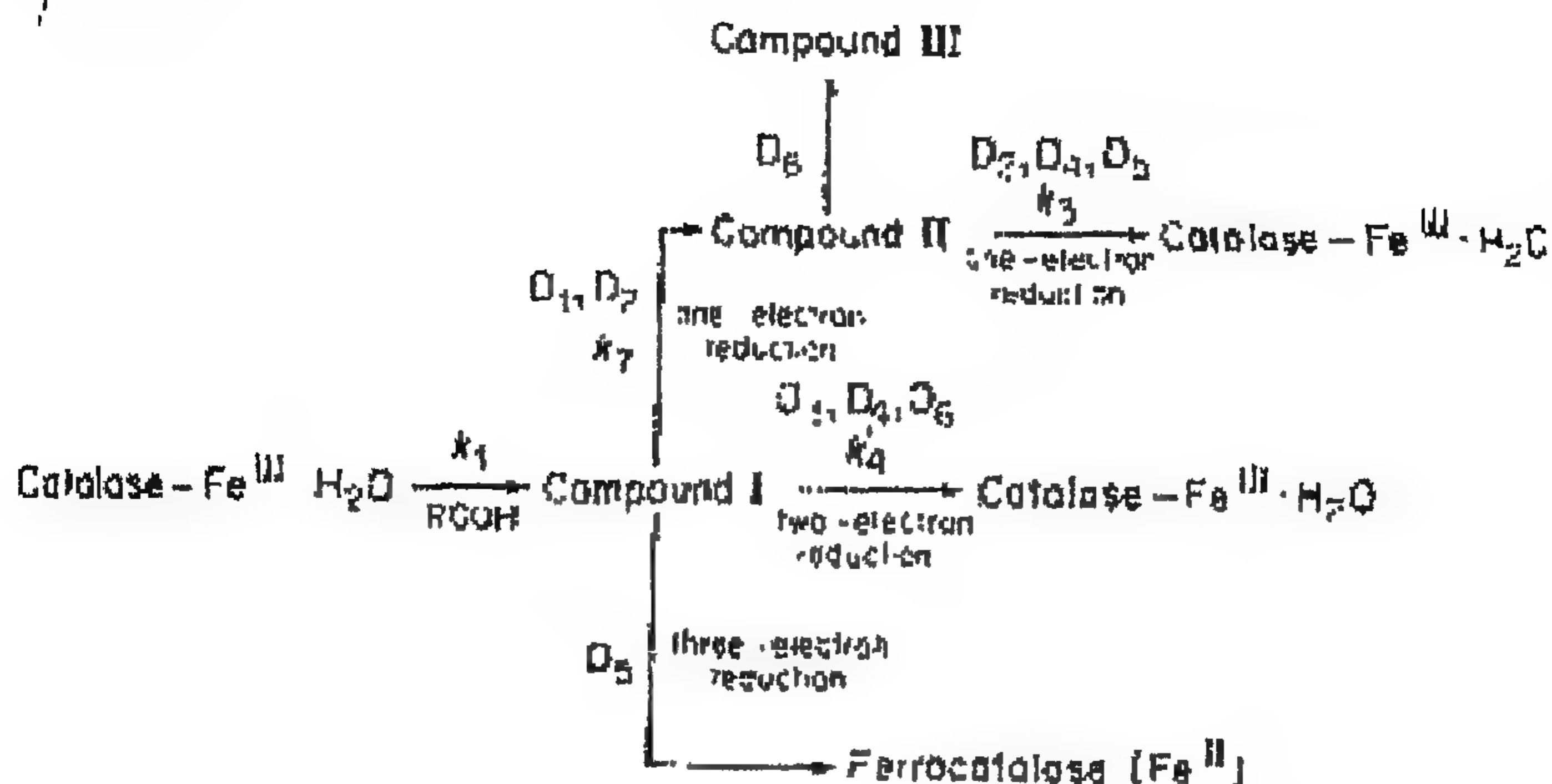
يحفز الكاتالاز نوعين من التفاعلات Catalatic و peroxidatic (المعادلتان 22-2 و 24-2). يظهر التفاعل التحفيزي Catalatic عند تقدير نشاط الأنزيم في الظروف الاعتيادية أما تفاعل البيروكسيد فإنه يحصل عند وجود تركيزات واطئة جداً من البيروكسيد وبوجود مانحات الهيدروجين مثل الميثانول والإيثانول والفينولات.

2-6-6-3 التغيرات الطيفية لأنزيم الكاتالاز والناتجة عن ارتباطه بالبيروكسيدات

عند إضافة تركيزات واطئة من بيروكسيد الهيدروجين إلى أنزيم الكاتالاز، تتكون مركبات مختلفة طيفياً مشابهة إلى حد كبير المركب I للبيروكسيداز شكل (2-19) كما يتكون المركب II بتركيزات واطئة. وعند وجود الكاتالاز مع بيروكسيد الاثيل Ethy peroxide يتكون تركيزات عالية من المركب II أما المركب III (احمر ساطع) (انظر شكل 2-19) فإنه لا يتكون عند وجود بيروكسيد المثيل أو الاثيل ولكنه يتكون عند وجود تركيزات عالية من بيروكسيد الهيدروجين إضافة إلى أحد مركبات البيروكسيد هذه ويعتقد بأن المركب III لا يلعب دوراً مباشراً في نشاط أنزيم الكاتالاز.

2-6-6-4 مانحات الهيدروجين لأنزيم الكاتالاز وآلية التفاعل؛

تمثل بيروكسيدات الهيدروجين والمثيل والاثيل (HOOH و CH_3OOH و $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OOH}$) الركائز الأساسية لأنزيم الكاتالاز في حين تعمل العديد من المركبات الأخرى بمثابة مانحات الهيدروجين (شكل 2-23). سوف نتناول المجاميع المانحة (D و Donors) الآتية: الفينولات D_2 ، الكحولات D_3 وبيروكسيد الهيدروجين D_6 .



شكل 2- 23 تفاعلات انزيم الكاتالاز مع مانحات الهيدروجين، تشير الحروف D إلى المانحات حيث أن D₁: Ascorbate أو D₂: Ferrocyanide فينولات، D₃: كحولات أو حامض الفورمك D₄: Formic، نترت D₅: Azide أو D₆: Hydrox-Ylamine بيروكسيد الهيدروجين.

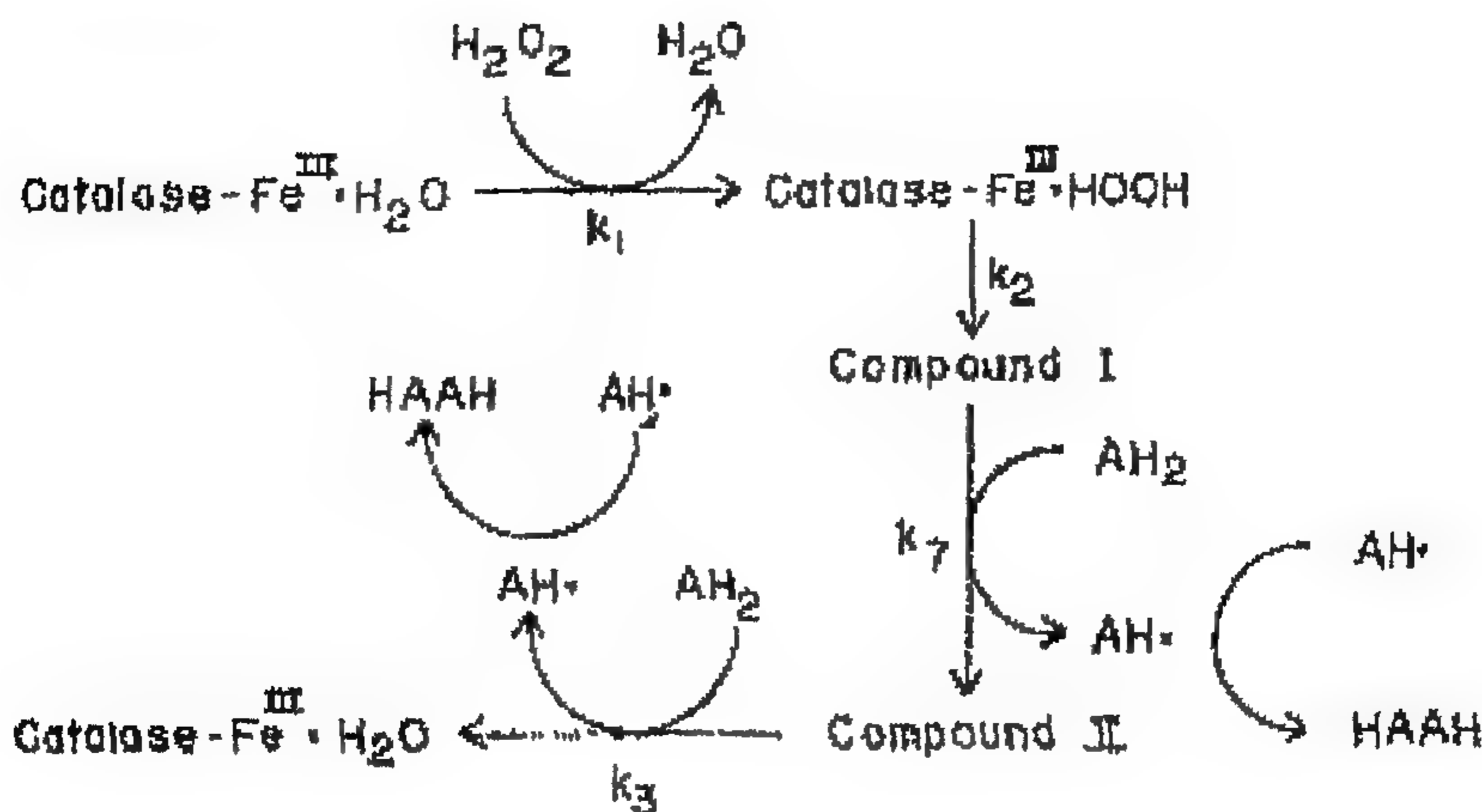
يقدر ثابت السرعة k₁ لتكوين المركب I بالقيم 10⁶ × 9 و 10⁰ × 8.5 و 10⁴ × 2 مول⁻¹ ثانية⁻¹ للركائز HOOH و CH₃OOH و CH₃CH₂OOH على التوالي في الرقم الهيدروجيني 7 ودرجة حرارة 25°م. إن ثابت السرعة K₁ من الدرجة الثانية مما يشير إلى تكوين معقد الأنزيم-الركيزة الذي يتفاعل بدوره لتكوين المركب I وكما ذكرنا سابقاً. فإن قيمة K₁ للكاتالاز وبيروكسيد الهيدروجين HOOH (10⁶ × 6 مول⁻¹ ثانية⁻¹) تقارب قيمته للبيروكسيداز والركيزة ذاتها HOOH (10⁶ × 9 مول⁻¹ ثانية⁻¹) إلا أن قيمة K₁ للكاتالاز أكثر اعتماداً على طبيعة البيروكسيد مما هي عليه للبيروكسيداز فهي 10⁴ × 2 مقابل 10⁶ × 3.6 مول⁻¹ ثانية⁻¹ للكاتالاز والبيروكسيداز على التوالي وبوجود CH₃CH₂OOH.

عندما يكون HOOH مانحاً للهيدروجين catalatic reaction فإن التفاعل يتجه مباشرة من المركب I لإنتاج الماء و O₂ ويتحرر الأنزيم Catalase-Fe^{III}.

H_2O (شكل 2-23). يكون ثابت السرعة K_4 لهذا التفاعل ثلاثة أضعاف K_1 ويساوي 1.8×10^7 مول l^{-1} ثانية l^{-1} لبيروكسيد الهيدروجين. يتضح إذن بأن كلا الخطوتين K_1 k_4 محددة لسرعة تحلل $HOOH$ المحفز بالكاتالاز.

عندما يجري التفاعل في تراكيز واطئة لبيروكسيد الهيدروجين (حوالي 10^9 مولار) وبوجود الكحولات مثل الميثانول والايثانول يتم أكسدة الكحول إلى الألدهيد (CO_2 ، H_2O في حالة الميثانول) والآلية نفسها التي يتم بها عندما يكون $HOOH$ مانحاً للهيدروجين إلا أن $K_4 = 1 \times 10^3$ مول l^{-1} ثانية l^{-1} للميثانول والايثانول و 9×10^0 مول l^{-1} ثانية l^{-1} لحامض الفورميك.

عند إضافة بيروكسيد الهيدروجين وأنزيم الكاتالاز إلى محلول حاو على مركبات أروماتية معينة مثل pyrogallol و p-Cresol فإن هذه المركبات تتأكسد إلى نواتج ملونة. وتحصل هذه التفاعلات بأسلوب مشابه لتلك المحفزة بالبيروكسيداز (شكل 2-24) يساوي ثابت السرعة K_3 لتحول المركب II إلى الأنزيم H_2O ، Catalase-Fe 80 و 8 مول l^{-1} ثانية l^{-1} للبايروكسالول pyrogallol و p-Cresol على التوالي بينما تقارب k_2 (التحول المركب I إلى المركب II) 240 و 24 مول l^{-1} ثانية l^{-1} على التوالي. إن هذه السرعات أقل بحوالي 4×10^4 مرة مما هي عليه لتفاعلات أنزيم البيروكسيداز وهذا يدل على أن كفاءة أنزيم الكاتالاز في تحفيز تفاعلات البيروكسيد واطئة إذا ما قورن بالبيروكسيداز والعكس صحيح تماماً فيما يحض تفاعلات التحفيز Catalatic.



شكل (2- 24) تفاعلات أنزيم الكاتالاز بوجود بيروكسيد الهيدروجين وبعض المركبات الأروماتية مثل بايروكالول أو P-Cresol (انظر الجدول 2- 2).

2-6-6-5 الأهمية التكنولوجية لأنزيم الكاتالاز

يوجد أنزيم الكاتالاز في جميع الخلايا القادرة على التنفس الهوائي ومصادره الصناعية هي الكبد وبعض أنواع البكتيريا مثل *Micrococcu* *Lysodeikticus*، *Penicillium Chrysogenum* والأعفان *Aspergillus niger* يمتلك الأنزيم المستخرج من البكتيريا *M. Lysodeikticus* رقم تحول يساوي 107 وهو من أنشط الأنزيمات المعروفة.

تكون أنزيمات الكاتالاز المستخرجة من الأعفان جديدة بالملاحظة لأنها أقل تأثراً بالحرارة ويتغير الرقم الهيدروجيني وبالتركيزات العالية لبيروكسيد الهيدروجين. إذا ما قورنت بالأنزيم المستخلص من مصادر أخرى. وقد يعزى السبب في ذلك إلى قلة الوزن الجزيئي (15000) مقارنة بأنزيم الكبد (250000) حيث أن تأثير التسخين في الجزيئات الكبيرة يكون أكثر مما هو عليه في الجزيئات الصغيرة.

يستخدم الكاتالاز في الصناعة (مع أوكسداز الكلوكوز) لإزالة O_2 و H_2O_2 من الأغذية المصنعة. ويعتبر الكاتالاز المستخرج من الأعفان أو الكبد للتخلص من بيروكسيد الهيدروجين المضاف بوصفه مادة حافظة ضد الأحياء المجهرية فمثلاً يستخدم للحليب المجهز لإنتاج الجبن كما يمكن بواسطته التخلص من الكمية الزائدة لبيروكسيد الهيدروجين بعد استعمال الأخير مادة قاصرة للألوان.

2-6-7 الأنزيم Lipoxxygenase

ويسمى أيضاً أوكسداز الشحوم Lipoxidase إسمه النظامي Linoleate: Oxygen Oxidoreductase: E C.1.13.1.11.12

ويحفز التفاعل الآتي:

حامض دهني غير مشبع + أوكسجين \rightarrow بيروكسيد الحامض الدهني غير المشبع ... (2-27)

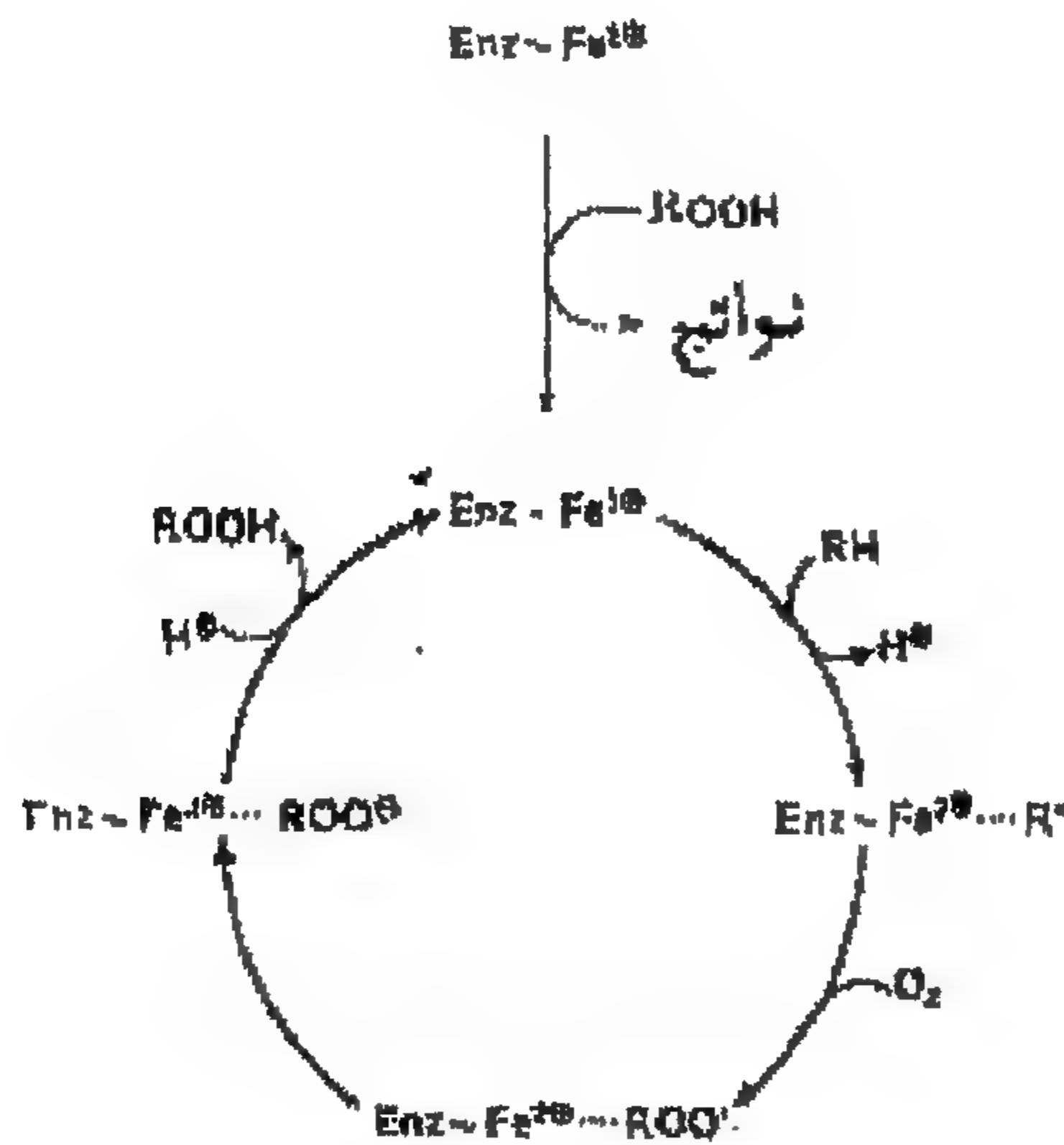
اكتشف هذا الأنزيم عام 1928 حيث سجل العالمان Haas و Bohn وجود أنزيم محلل للكاروتين Cartotene Oxidase في فول الصويا Soy bean وفي سنة 1932 قدم تقرير آخر يوضح إحتواء فول الصويا على أنزيم يسمى Iipoxidase يؤكسد الدهون غير المشبعة. وأصبح واضحاً عام 1943 بأن الأنزيمين Carotene Oxidase و Lipoxxygenase هما أنزيم واحد ومع هذا فلقد أشارت المعلومات اللاحقة إلى أن الأنزيم Lipoxxygenase النقي نشاطاً تحفيزياً أضعف منه للأنزيم غير النقي عند أكسدة الكاروتين مما دعا إلى احتمال وجود أنزيم ثان مؤكسد للكاروتين.

يوجد الأنزيم المؤكسج للشحوم Lipoxxygenase في عدد كبير من النباتات وخاصة في البقوليات Legumes كما يوجد في البازاليا والفول السوداني والفاصوليا واللوبياء والفجل والبطاطا.

1-7-6-2 خصوصية التحفيز الأنزيمي Specificity of Lipoxygenase وآليته :

يتخصص الأنزيم المؤكسج للشحوم Lipoxygenase بأكسدة الأحماض الدهنية والدهون التي تحتوي على وحدة -1,4- cis, cis penta diene مثل حامض اللينوليك Linoleic واللينوليك Linolenic والإراكدونيك Arachidonic إذ تحتوي جميعاً على واحدة أو أكثر من هذه الوحدات.

يعد الأنزيم Lipoxygenase من البروتينات المعدنية Metaloprotein إذ يحتوي الموقع النشط على أيون الحديد. ينشط الأنزيم بناتج التفاعل الذي يحفز به وبواسطته يتأكسد Fe^{+2} إلى Fe^{+3} كما في الشكل (2-25) ويمكن توضيح آلية التفاعل كالآتي:



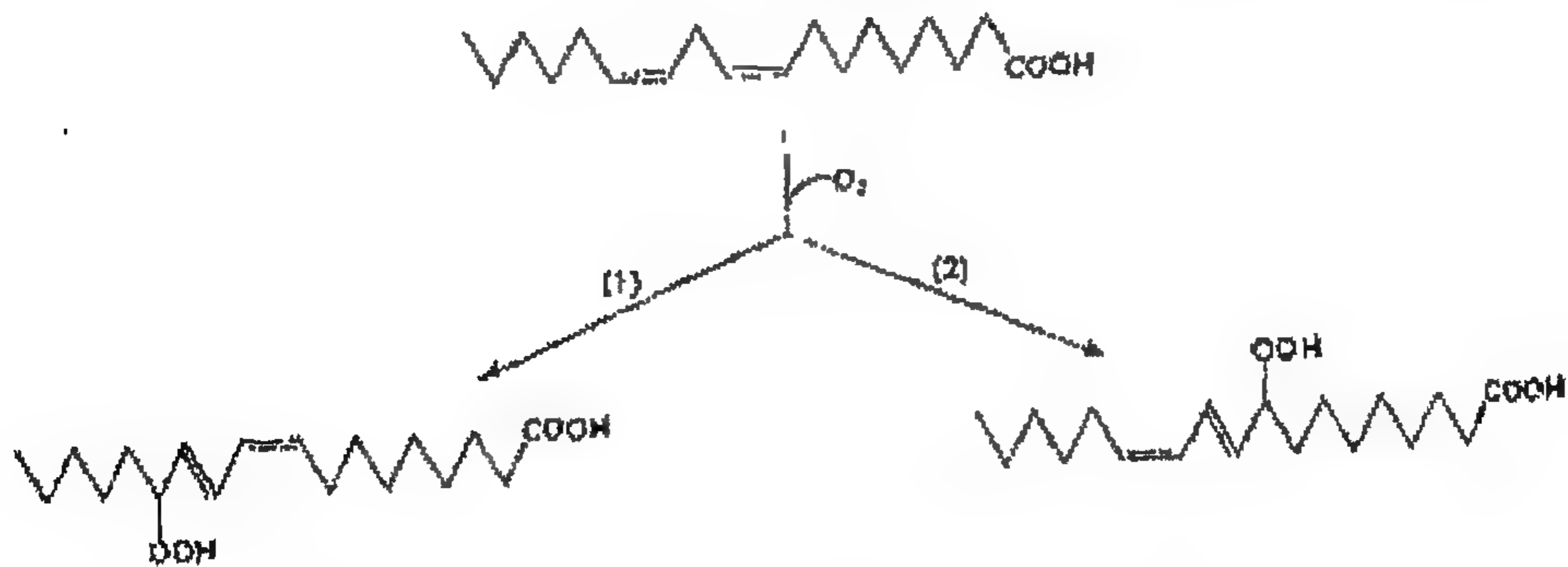
شكل 2-25: آلية التحفيز بالأنزيم المؤكسج للشحوم Lipoxygenase يرمز RH

للحامض الدهني Linoleic وRoOH لهيدروبيروكسيد الحامض الدهني

يتفاعل الأنزيم $Enz \sim Fe^{+3}$ مع الحامض الدهني RH مؤدياً إلى فقدان ذرة هيدروجين من مجموعة المثلين لوحدة 1.4-penta diene تتأكسد ذرة الهيدروجين إلى بروتون وينتج من التفاعل الجذر الحر R الذي يشكل معقداً مع الأنزيم $Enz-Fe^{+2}-R$ يتفاعل المعقد المذكور مع الأوكسجين لتكوين $Enz-Fe^{+4}-Roo$ أي معقد (جذر البيروكسيد - الأنزيم) ويختزل جذر البيروكسيد من قبل الأنزيم ليتكون المعقد $Enz-Fe^{+3}-Roo$. وأخيراً يرتبط المعقد الناتج مع بروتون ليتحرر البيروكسيد ROOH والأنزيم $Enz-Fe^{+3}$.

هناك نوعان من الأنزيمات المؤكسجة للشحوم في النباتات:

أ - 1-Lipoxygenase: ويعمل على الأحماض الدهنية الحرة غير المشبعة والحاوية على وحدة Cis- Cis- 1.4- penta diene ويحولها بدرجة عالية من التخصص الفراغي specificity stereo- إلى البيروكسيد ويتكون بذلك هيدروبيروكسيد Hydroperoxide يحوي على وحدة Cis, trans-diene ويكون فعالاً بصرياً كما في الشكل (2-26).



شكل (2-26) خصوصية الانزيم Lipoxygenase-I تجاه الركيزة Linoleic
(1) الانزيم المستخرج من فول الصويا (2) الانزيم المستخرج من الطماطا.

يستطيع Lipoxxygenase-I أن يحول حامض اللنولييك إلى β -Hdropcroxide أو إلى O-Hydroperoxide (انظر الجدول 4-2 والشكل 2-26).

ب- Lipoxxygenase-II: تعمل هذه الأنزيمات على أنها عوامل محفزة للتأكسد الذاتي Autoxidation إذ تعمل بتخصص واطيء في تحويل الحامض الدهني Linoleic إلى نوعين من الهيدروبيروكسيدات المعروفة- والنتيجة من التأكسد الذاتي- (جدول 5-2) وإلى نواتج تأكسدية أخرى مثل Oxodiene fatty acids إضافة إلى ذلك فإن هذه الأنزيمات تعمل على الأحماض الدهنية المؤسترة دون الحاجة للفعل المسبق لأنزيم الليباز Lipase.

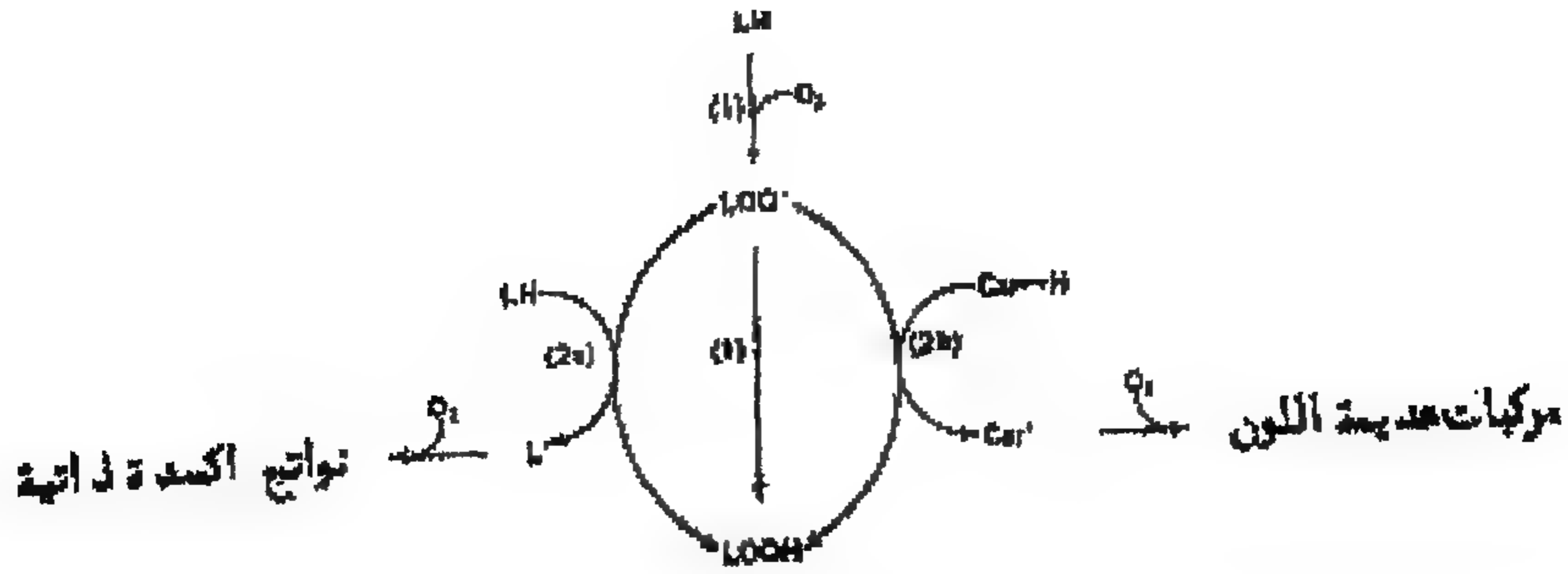
يستطيع Lipoxxygenase-II أن يساهم في أكسدة الكلوروفيل والكاروتينات ويحولها إلى مركبات عديمة اللون وتستغل هذه الخاصية الأنزيمية لقصر لون الطحين.

جدول 5-2: مصادر الأنزيمات المؤكسجة للشحوم Lipoxxygenases وبعض صفاتها.

الأغذية	نوع الأنزيم	الرقم الهيدروجيني الأمثل	خصوصية الأكسدة	
			9- RooH (%)	13 (%) - RooH
فول الصويا	I	-9	5	95
فول الصويا	II	6.5	50	50
البازلاء	II	6.5	50	50
الفول السوداني	I	6.0	صفر	100
البطاطا	I	5.5	95	5

خصوصية الأكسدة		الرقم الهيدروجيني الأمثل	نوع الهيدروجيني	الأغذية
RooH (%) -	RooH (%) -9			
95	5	5.5	I	الطماطة
90	10	6.0	I	الحنطة
75	25	5.5		الخيار
10	90	6.0		التفاح
23	77	6.5		التوت الأرضي
45	55	6.5	II	كزبرة

إن قابلية الأنزيمات Lipoxxygenase-II على الإسهام في أكسدة هذه المواد يعود إلى أن الجذور الحرة الأولية للبيروكسيد لا تتحول بسرعة إلى الهيدروبيروكسيد (التفاعل 1 شكل 27-2) كما هي الحالة مع أنزيمات النوع الأول Lipoxxygenase وإنما يستطيع البعض سلب ذرات هيدروجين من الأحماض الدهنية غير المشبعة الموجودة (التفاعل a2 شكل 27-2) أو من مركبات حاوية على عدد من الأواصر المزدوجة Polyene مثل الكاروتين كما في التفاعل b2 (شكل 27-2) وبذلك تمهد إلى التأكسد الذاتي لهذه المركبات.



شكل (2-27) تفاعلات الانزيم Lipxygenase-II

(1) المسلك الرئيس للتحفيز

(2a) و (2d) يرمزان إلى الخطوة التي تساهم فيها جذور البيروكسيد بعملية الأكسدة Cooxidation

Linoleic acid = LH (حامض اللينوليك)

Carotenoid = Car - H (كاروتينويد)

LOOH = هيدروبيروكسيد حامض اللينوليك

(Hydroperoxide of Linoleic acid)

نواتج أكسدة ذاتية

مركبات عديمة اللون

2-6-7-3 الأهمية التكنولوجية للإنزيمات المؤكسجة للشحوم

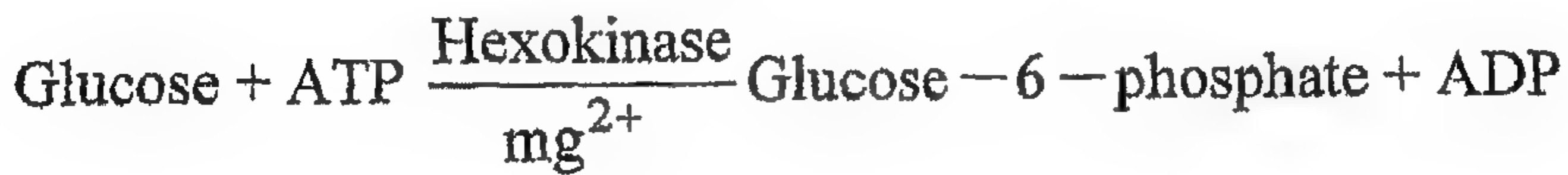
تعزى المرارة الحاصلة في منتج الشوفان إلى فعالية الأنزيم Lipxygenase ذلك أن نشاط الأنزيم Lipase يؤدي إلى تحرير الأحماض الدهنية لنوليك ولنوليك وهذه تتحول فيما بعد نتيجة لفعالية الأنزيم Lipxygenase إلى البيروكسيدات ومن ثم وبطريقة كيميائية صرفه إلى مركبات أخرى تكسب المنتج طعما مرا. يعمل الأنزيم المؤكسج للشحوم كذل على ثلاثيات اسيل الكلسيرول Triacyl glycerol ولكن بسرعة أقل جدا منها عند أكسدة الأحماض الدهنية.

وهذا يدل على أن نشاط أنزيم الليباز يعجل في الأكسدة المحفزة بالأنزيم Lipxygenase إلى حد كبير.

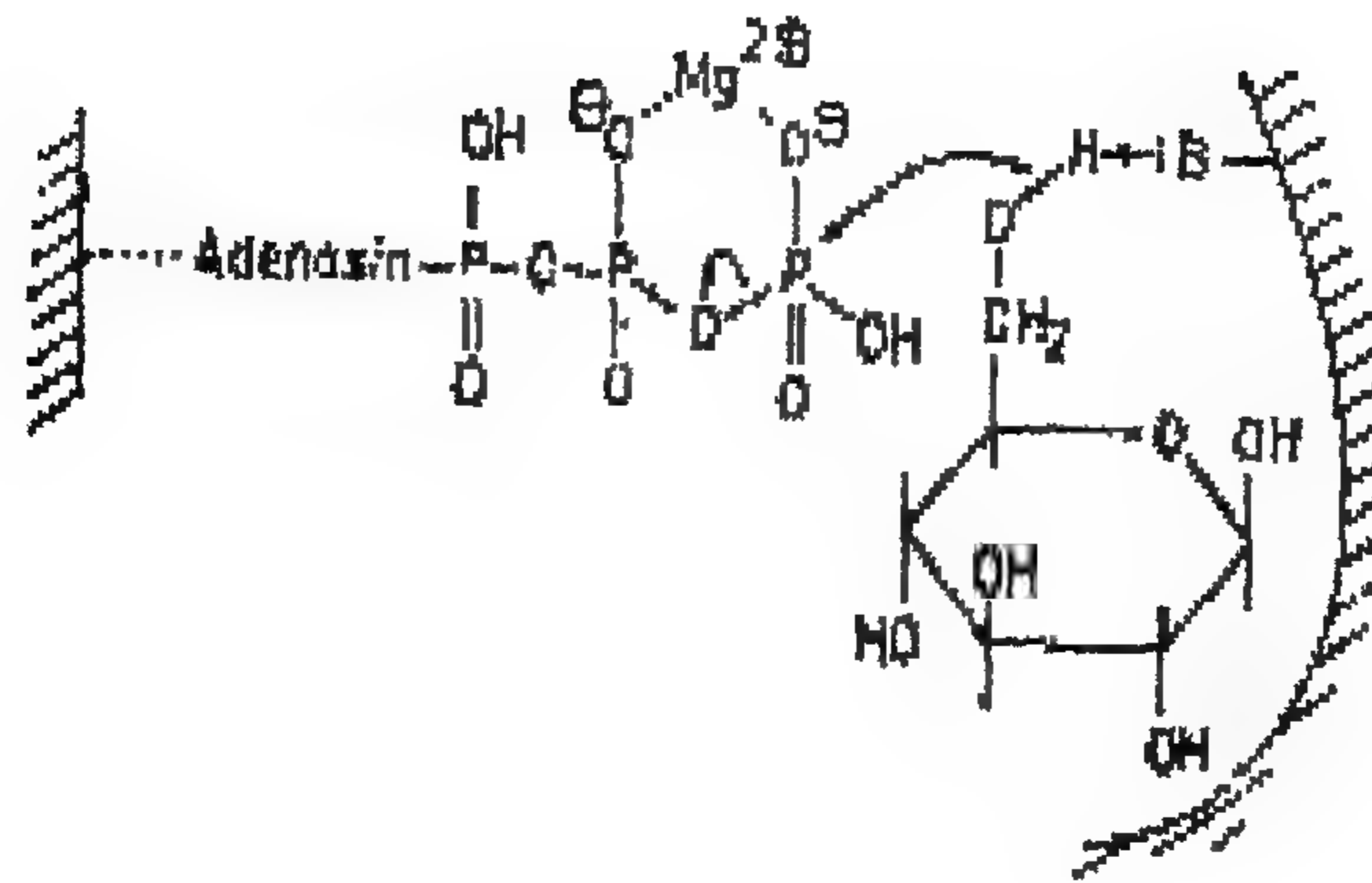
يفضل عند إنتاج المعجنات استعمال أصناف الحنطة الحاوية على نسبة عالية من الكاروتينات لتكوينها وبذلك لا تحتاج هذه المعجنات إلى التلوين بوصفه خطوة إضافية. إلا أن وجود الأنزيم Lipxygenase يمكن أن يؤدي إلى تكوين البيروكسيدات التي تهدم الكاروتينات نتيجة لعملية التأكسد وبذلك يفقد المنتج لونه في أثناء خطوات التصنيع أو التخزين ولهذا فمن المستحب أن تحتوي المادة الخام على نسبة عالية من الكاروتينات ونسبة واطئة من الأنزيم Lipxygenase ولقد أمكن في السنوات الأخيرة إنتاج صنفين من الحنطة Durum في كندا يحمل هذه المواصفات.

7-2 الأنزيمات الناقلة Transferases

تعمل على نقل مجاميع (لا تتضمن H) مثل مجموعة الميثيل (CH₃) ومجموعة الأسيل Acyl ومجموعة الكلايكوسيل ومجموعة الأمين ومجموعة الفسفات إلى جزيئات أخرى (غير الماء). وكمثال نقل مجموعة الفسفات من الـ ATP إلى الكلوكوز لتحفيز الأنزيم الناقل لهذه المجموعة والمسمى Hexo Kinase:



(28-2)

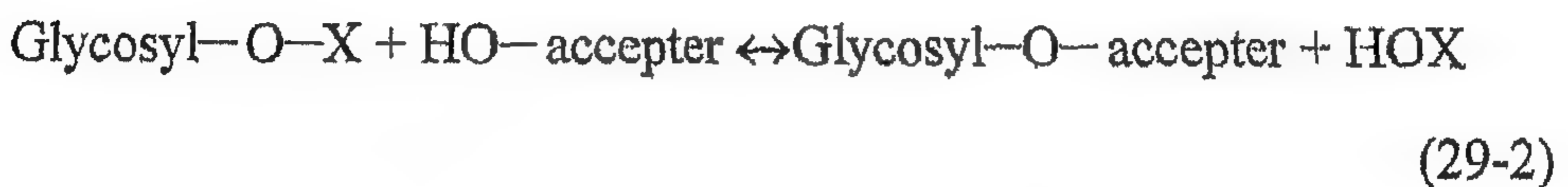


شكل (28-2) تأثير Mg^{2+} في معقد الأنزيم - الركيزة

يعمل أيون المغنيسيوم المحب للكثرونات بمثابة حامض لويس Lewis acid إذ يستقطب الاصرة - P-O لمجموعة الفسفات العائدة للركيزة ATP وبذلك يسهل هجوم ROH المحب للنواة Nucleophile على P-O كما في موضح في الشكل (28-2).

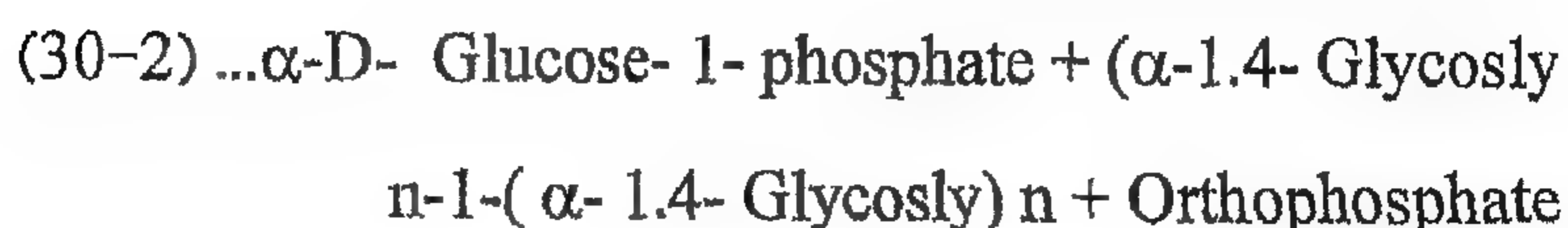
2-7-1 الأنزيمات الناقلة للكليكوسيل Glucosyl transferases, Ec. 2.4

يمكن تمثيل التفاعل الإجمالي للتخليق الحيوي لثنائيات السكر وقليلات السكر وعديدات السكر بالمعادلة التالية (29-2).



وتحدد طبيعة الجزء (X) الطرق الثلاث لتكاثف السكريات:

أ- إذا كانت (X) مجموعة فسفات كما في Aldose-1-phosphate سمي الأنزيم الناقل Phosphorylase كما في التفاعل الآتي:



ب- إذا كان (x) pyrophosphate Nucleoside كما في المركبات Nucleoside diphosphate glycosides سمي الأنزيم الناقل. Nucleoside diphosphate transglycosylase كما في الأنزيم المحفز لتخليق السكروز : Sucrose-UDP glycosyltransferase



ج- إذا كان الجزء (x) سكريدات أحادية، ثنائية، قليلة أو عديدة الوحدات سمي الأنزيم Transglycosylase وكمثال Amylosucrase و Dextransucrase و Levansucrase (جدول 2-6) التي تؤدي إلى تكوين اميلوديكتسترين Amylodextrin وديكستران Dextran وليفان Levan على التوالي:

جدول 2-6 تكوين عديدة السكريد عن طريق نقل جزء الكلوكوسيل

المواهب Donor	المستقبل Acceptor	البوليمر polymer	نواتج أخرى Other product	الأنزيم Enzyme
Sucrose سكروز	(Glucose)n	Amylodextrin (1-4)	D- Fructose دي- فركتوز	Amyosucrase (α-1, 4-glucan: D- Fructose glucosyl transferase, -2 Ec 2.4. 1.4
Sucrose سكروز	(Glucose)N	Dextran (1-6)	D- Fructose دي- فركتوز	Dext ransucrase (α-1.6- glucan: D- fructose glucosyl transferase, -2 Ec 2.4.1.5

المواهب Donor	المستقبل Acceptor	البوليمر polymer	نواتج أخرى Other product	الأنزيم Enzyme
Sucrose سكروز	(Fructose)N	Levan	D-Glucose دي كلوكوز	Levansurase (β -2,6- Fructan: D glucose fructosyl transferase, -6 Ec 2.4.1.10)
Maltose مالتوز	(Glucose)N	Amylodextrin (1-4)	D-Glucose دي-كلوكوز	Amylomaltase (α - 1,4- glucan: 4- glucosyltrans ferase, EC. 2.4 1.3

لهذا النوع من التفاعلات أهمية خاصة في الأحياء المجهرية وتستخدم الطاقة الموجودة في الأواصر الكليكوسيدية للمركبات المانحة (جدول 2-7) لتخليق الأواصر الكليكوسيدية الجديدة. يتضح من الجدول (2-7) بأن للأصرة C-N في المركب UDP- glucose طاقة أكبر بقليل من الأصرة الكليكوسيدية للسكروز، كما أن السكروز يكون واهبا أفضل لمجموعة الكليكوسيل من المركب Glucose-1- phosphate وأفضل بكثير من المالتوز، ولهذا يستخدم بمثابة واهب لمجموعة الكليكوسوسيل عند تخليق الديكستران Dextran والليفان Levan جدول (2-5).

جدول (2-7) طاقة التحلل المائي للمركبات المانحة للكليكوسيل

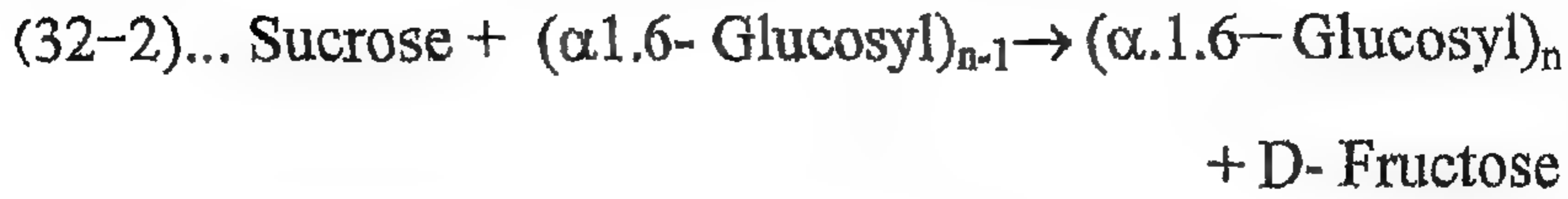
Glycosyl donors وبعض عديدات السكر

Compound المركب	AF ⁰ Cal/ mole
Glucose 1- phosphate	5500-
UDP- glucose	7600-
Sucrose	6600-
Maltose	3000-
Glycogen	4300-
Dextran	2000-
Levan	4600-

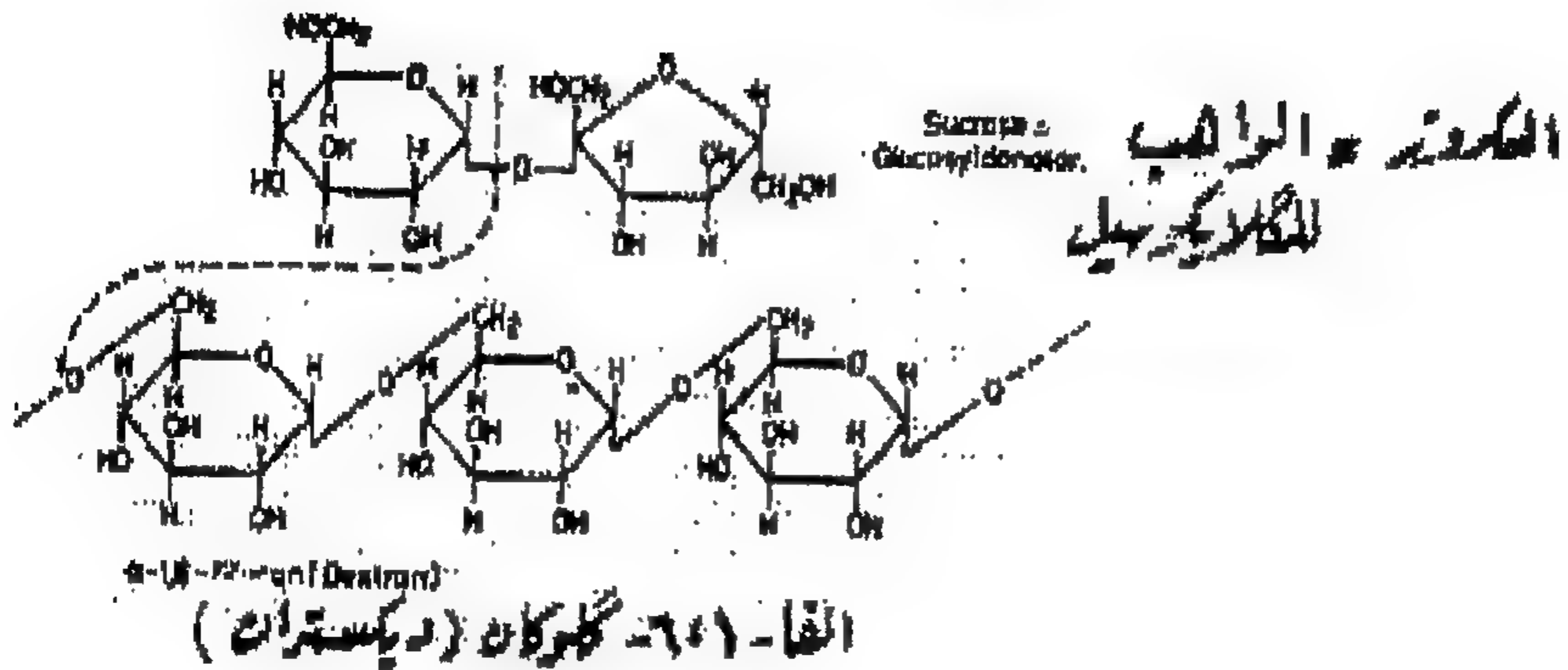
وعند ملاحظة الجدول (2-6) تتضح أهمية الأنزيم Dextranase في تصنيع الغذائي، إذ يمكن استخدام الديكستران ذي الأواصر α 1-6 الكليكوسيدية بوصفه عامل تركيز Thickening agent للأغذية ذات الحمية الغذائية Dietetic foods ذلك لأن الإنسان لا يملك في قناته الهضمية الأنزيمات التي تحلل هذا البوليمر بسرعة ملحوظة. كما تستخدم الديكسترانات على أنها مواد أولية في إنتاج أو تحضير مادة السيفاديكس التي تستخدم في الترشيح الهلامي للجزيئات الحيوية بهدف فصلها وتنقيتها كما تستخدم في عملية نقل الدم ولأغراض أخرى مختلفة. ويعد الأنزيم Dextranase مسؤولاً عن الطبيعة اللزجة أو الغروية للبيرة والمنتجات الأخرى.

تجابه معامل السكر مشكلة انسداد الأنابيب بسبب تحول السكر إلى الديكستران لزج القوام نتيجة لنمو البكتيريا الحاوية على أنزيم Dextran

sucrase وكمثال Leuconos- Toc mesenteroids ويمكن توضيح التفاعل اللاعكسي. الذي يحفز الأنزيم كالآتي:-



ويمكن توضيح عملية نقل الكليكوسيل في المخطط الآتي:-



إن تخليق الديكستران يتم في غياب أيونات الفوسفات ويتضح من المعادلة (32-2) بأن الأنزيم ينقل الكلوكوز من السكروز إلى جزيئة ديكستران من النوع (α-1-6) ذات وزن جزيئي منخفض وبهذه الطريقة يزداد طول سلسلة الديكستران تدريجياً.

يمتلك أنزيم Dextran sucrase تخصصاً عالياً للسكروز بوصفه مركباً مانحاً للكلوكوز ولكن تخصصه واطيء نسبياً تجاه المستقبل. إن أحسن المستقبلات هي الديكسترانات ذات الأوزان الجزيئية الواطئة، غير أن هناك مركبات أخرى يمكن أن تكون بمثابة مستقبلات مثل ايزومالتوز Isomaltose ومالتوز وفركتوز وكلوكوز وميلوبيوز Melobiose وكلاكتوز ولكن سرعة تخليق الديكستران تكون واطئة بوجود هذه المستقبلات وكذلك الحال مع

حجم الناتج، كما يعتمد حجم الناتج على تركيز المستقبل فعند وجود تركيزات عالية من الكلوكوز، يتكون فقط ثنائي السكريد وثلاثي السكريد ونسبة قليلة جداً من عديد السكريد.

يعين نشاط الأنزيم Dextranucrase بالزيادة الحاصلة في سكر الفركتوز المختزل أو بقياس لزوجة المحلول.

لا يمكن تثبيط Dextranucrase بالأيونات F^- و CN^- و CU^{2+} و Ag^+ وخلات اليود ولا بالديليزة. وهناك أبحاث تشير إلى أن الأكسدة الضوئية تفقد الأنزيم نشاطه.

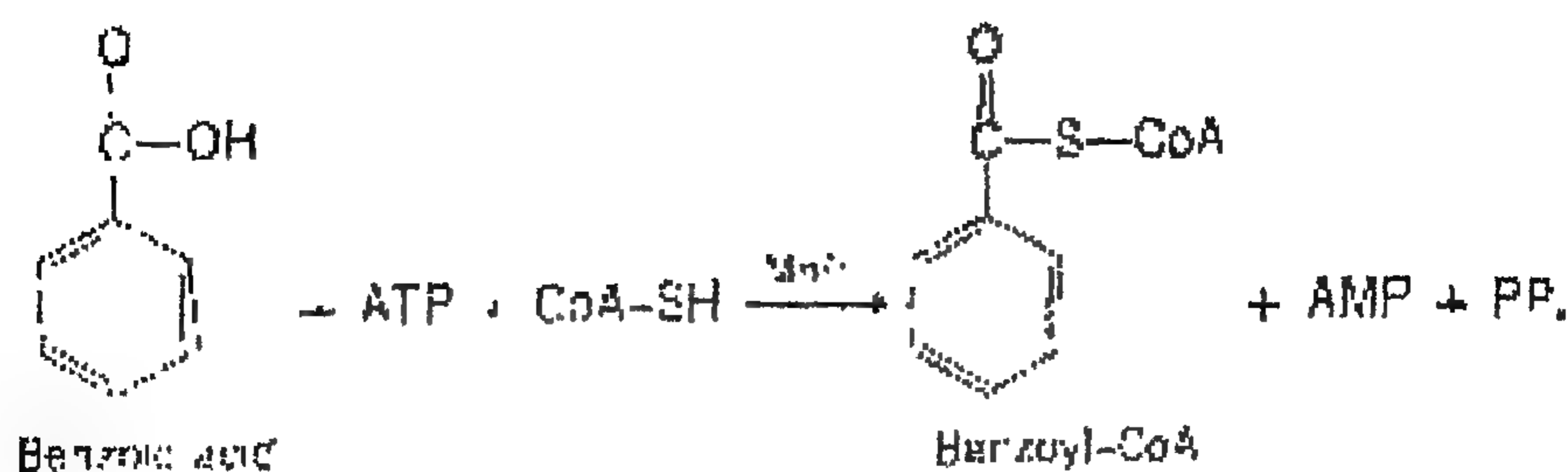
2-7-2 ناقلات مجاميع الأسيل Acyltransferase. Ec 2.3

تحفز هذه الأنزيمات نقل مجاميع الأسيل من الجزيئات المانحة إلى الجزيئات المستقبلة كما في المعادلات التالية (2-33، 2-34) التي توضح نقل مجموعة استيل عن طريق تميم الأنزيم A (Coenzyme A):



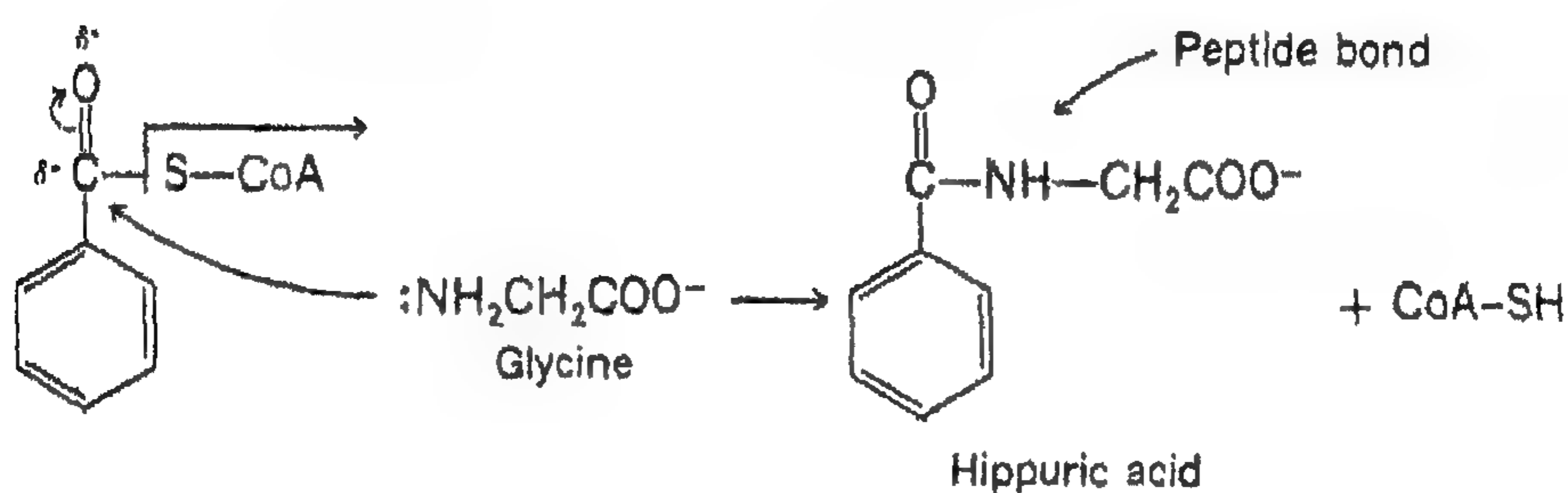
ملاحظة: يرمز CoA هنا إلى تميم الأنزيم A دون مجموعة الثايول ($-\text{SH}$).

يلعب تميم الأنزيم A دوراً مهماً في العمليات الأيضية وكمثال دورة حامض الستريك وتخليق الأحماض الدهنية ونكوصها Degradation وتخليق ثلاثيات الكلسيريد Triglycerides والفسفتيدات phosphatides كما يلعب دوراً مهماً في إزالة سمية حامض البنزويك Benzoic المستخدم بوصفه مادة حافظة preservative في الأغذية المصنعة إذ يقترن به بتحفيز أنزيم Acyl—CoA synthetase



(35 -2) ...

وبتحفيز أنزيم Glycine acyltransferase يتم نقل جزء البنزويل إلى الحامض الأميني Glycine لتكوين حامض الهيبورك Hippuric الذي يتم إفراغه excreted عن طريق الإدرار.



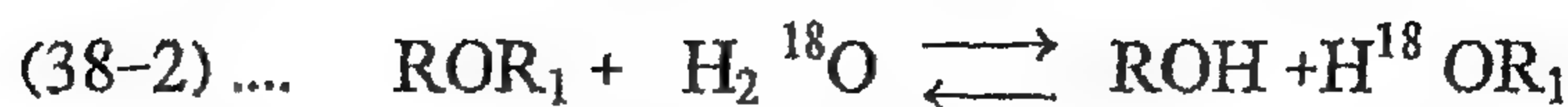
(36 -2) ...

8-2 أنزيمات الهيدرولاز (Hydrolases)

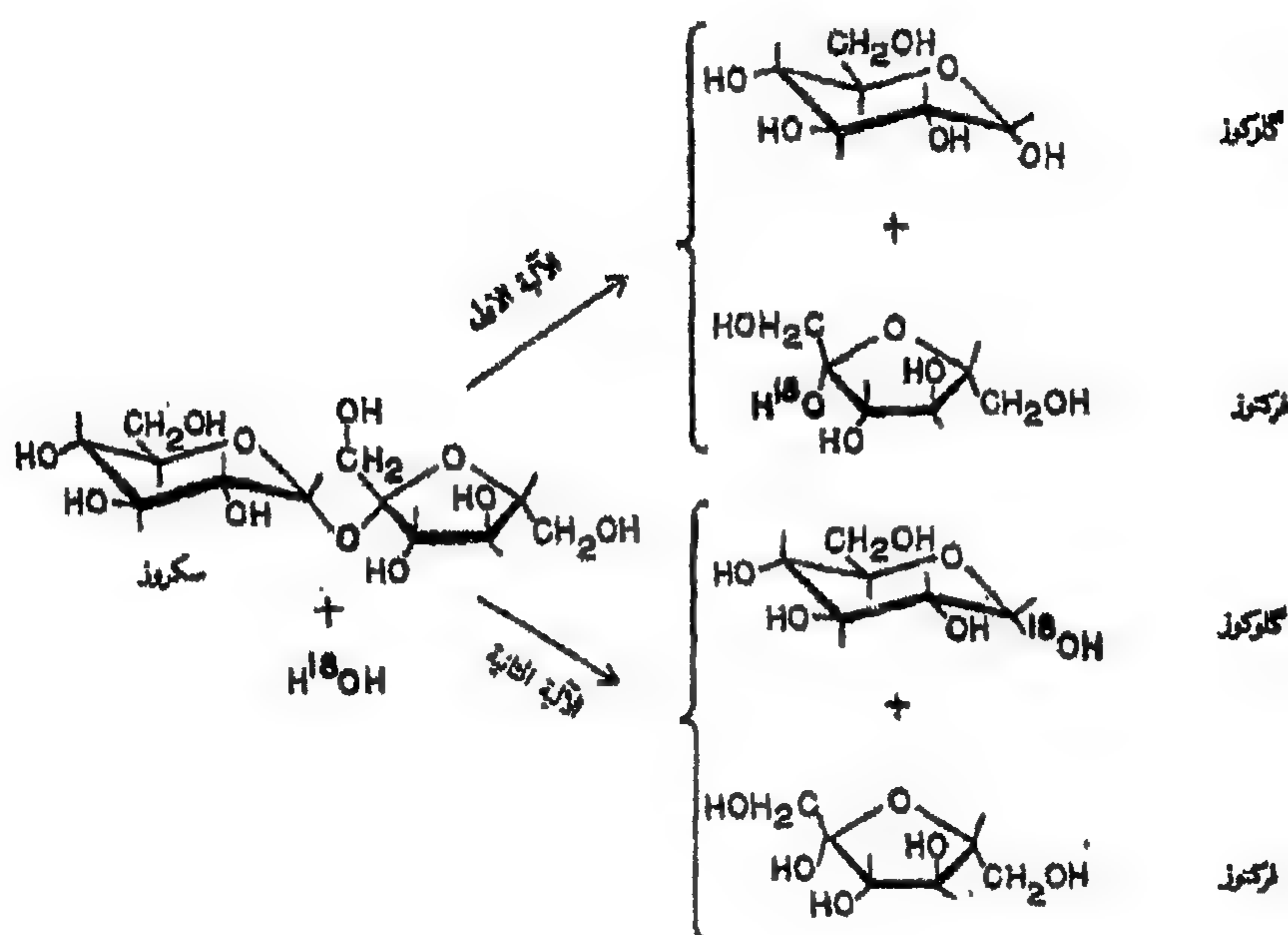
تحفز أنزيمات الهيدرولاز التحلل المائي للركائز بنقل مكوناتها إلى الماء:



ولقد أدى استعمال H_2O^{18} في التفاعل إلى توضيح آلية عمل الكثير من أنزيمات هذه المجموعة، وعلى سبيل المثال تحفز الأنزيمات Glucoside hydrolases التحلل المائي لأصرة الكلوكوسيد ويمكن أن يتم ذلك بأحد طريقتين:



فإذا كانت الركييزة ROR_1 سكروز مثلاً يتكون فركتوز حاو على ^{18}O حسب الآلية الأولى بينما يكون الكلوكوز موسوم بالنظير ^{18}O في الآلية الثانية وكما يأتي:



ويمكن إثبات الآلية باستخدام المرسام الطيفي الكتلي Mass Spectrometer. تقسم أنزيمات الهدرولاز إلى أصناف ثانوية تبعا لنوع الأصرة التي تحفز تحللها المائي (جدول 2-8).

جدول (2-8) الأصناف الثانوية لأنزيمات الهيدرولاز تبعا لطبيعة الأصرة التي تحفز تحليلها المائي.

الرقم النظامي (Ec. No)	التسمية الثانوية	عدد الأنزيمات
3.1	التي تعمل على أواصر الاستر	62
3.2	التي تعمل على أواصر الكلوكوسيل	45
3.3	التي تعمل على أواصر الأثير	1
3.4	التي تعمل على أواصر البيبتيدية	39
3.5	التي تعمل على أواصر C-N غير الأواصر البيبتيدية	46
3.6	التي تعمل على أواصر انهديد الحامض	12
3.7	التي تعمل على أواصر c-c	3
3.8	التي تعمل على أواصر الهاليد	2
3.9	التي تعمل على أواصر P-N	1

2-8-1 أنزيمات الليباز Lipases

تعمل أنزيمات الليباز (Glycerol ester hydrolase.EC3.1.1.3) على التحليل المائي لثلاثيات الكلسيريد



وتوجد هذه الأنزيمات في العصارة البنكرياسية ويلازما الدم وفي الأمعاء الدقيقة واللحباب والحليب والشوفان والقمح وفول الصويا السوداني وفي البكتريا والعفن Mold. إن ليباز الحليب مسؤول عن ترنخة rancidity الناتج وعن التحلل

المائي للدهون. وتلاحظ هذه الظاهرة في الحليب سيء البسترة أو الحليب المتروك دون بسترة وكذلك في الزبدة.

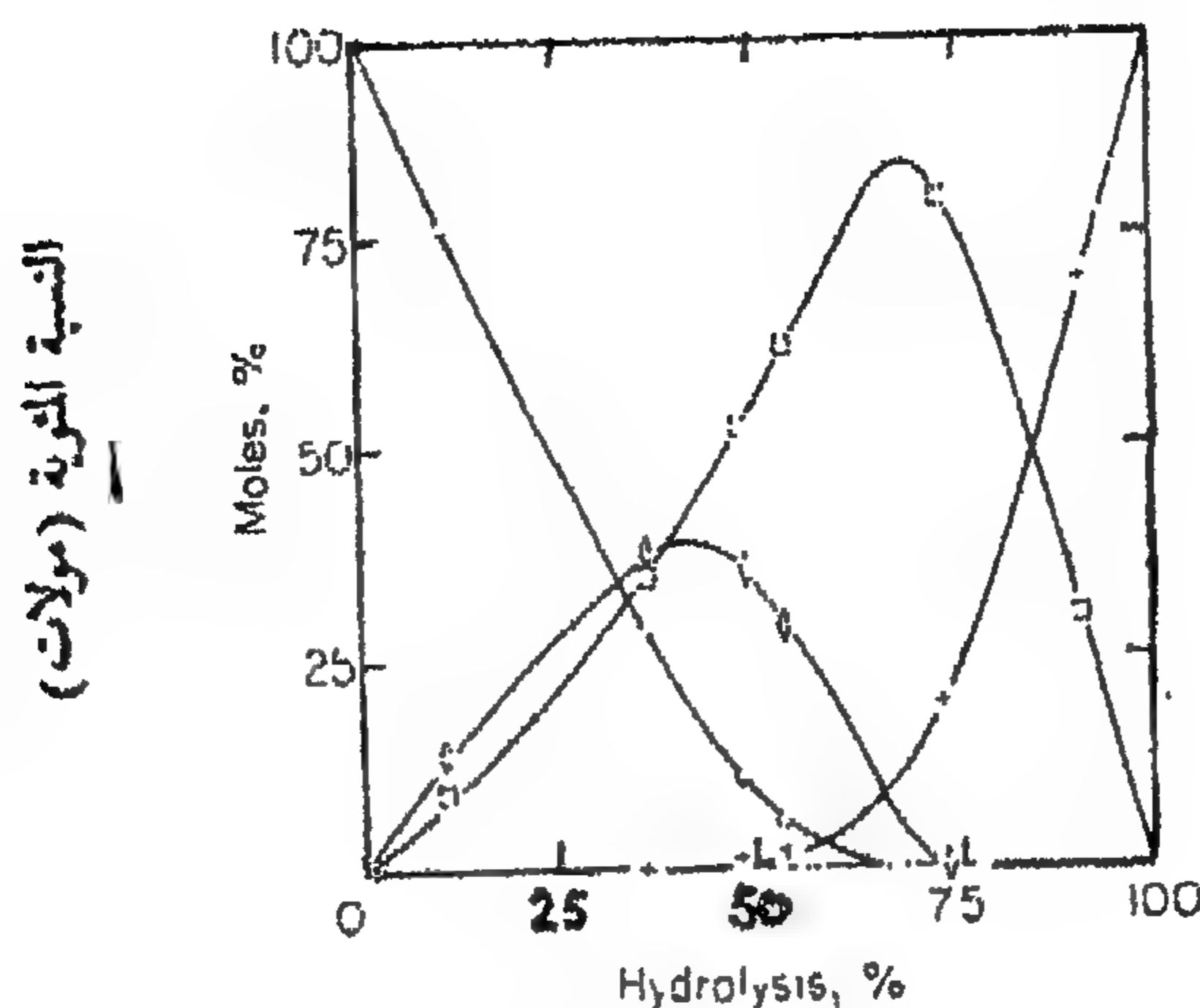
تعمل أملاح الصفراء وخاصة Taurocholate بوصفها منشطا لأنزيم الليباز ويعود هذا بدرجة رئيسة إلى التأثير الاستحلابي لهذه الأملاح.

يختلف الرقم الهيدروجيني الأمثل للأنزيم لمصدره فالأنزيم المستخلص من الحليب فعالية قصوى في الرقم الهيدروجيني (9.0) فيما يكون الرقم الأمثل لأنزيم البنكرياس (8.0) ولأنزيم بذور الخروع (4.3) ولأنزيم الأحياء المجهرية (5-6). وهكذا الحال مع درجة الحرارة المثلى إذ تختلف مع المصدر. يظهر ليباز الحليب مقاومة عالية للحرارة.

2-8-1-1 خصوصية أنزيم الليباز

إن معدل السرعة النسبية لتحلل المائي لثلاثيات الكلسيريد أعلى منها لثنائيتها وهذه تحلل بسرعة نسبية أعلى منها لأحاديات الكلسيريد كما في الشكل (2-29)، فعند حضان ثلاثيات الكلسيريد مع الأنزيم وتقدير كميات ثلاثيات الكلسيريد وثنائيتها وأحاديتها والكلسيروول في فترات زمنية مختلفة لوحظ انخفاض سريع في ثلاثيات الكلسيريد وازدياد سريع في ثنائيات الكلسيريد وازدياد قليل نسبيا في أحاديات الكلسيريد. وأما محتوى الكلسيروول فقد كان قليلا حتى المراحل الأخيرة من التفاعل حيث تناسبت سرعة تكوينه مع سرعة تحلل أحاديات الكلسيريد.

لقد أظهرت الأبحاث المختلفة بأن ليباز البنكرياس يهاجم المواقع 1 و 3 لثلاثيات الكلسيريد وتنتج عن ذلك أحاديات اسيل الكلسيروول. وقد تم إثبات ذلك باستخدام الأنواع الثلاثة التالية لثلاثيات الكلسيريد:



النسبة المئوية للتحلل المائي

شكل (2- 29) تسلسل الأحداث عند التحلل المائي لثلاثيات الكلسبريد بفعل انزيم الليباز المستخلص من الخنزير. أجريت التجارب بوجود أيونات الكالسيوم و **Taurocholate**. (O)، ثلاثيات أسيل الكلسيرول (O)، ثنائيات أسيل الكلسيرول (O)، أحادييات أسيل الكلسيرول. (+) كلسيرول.

1.3- Dipolmity 1-2- oleyl glyceride (pop) (أ)

2.3- Dipalmityl-1- oleyl glyceride (op) (ب)

2.3- Dioleoyl-1 palmity glyceride (poo) (ج)

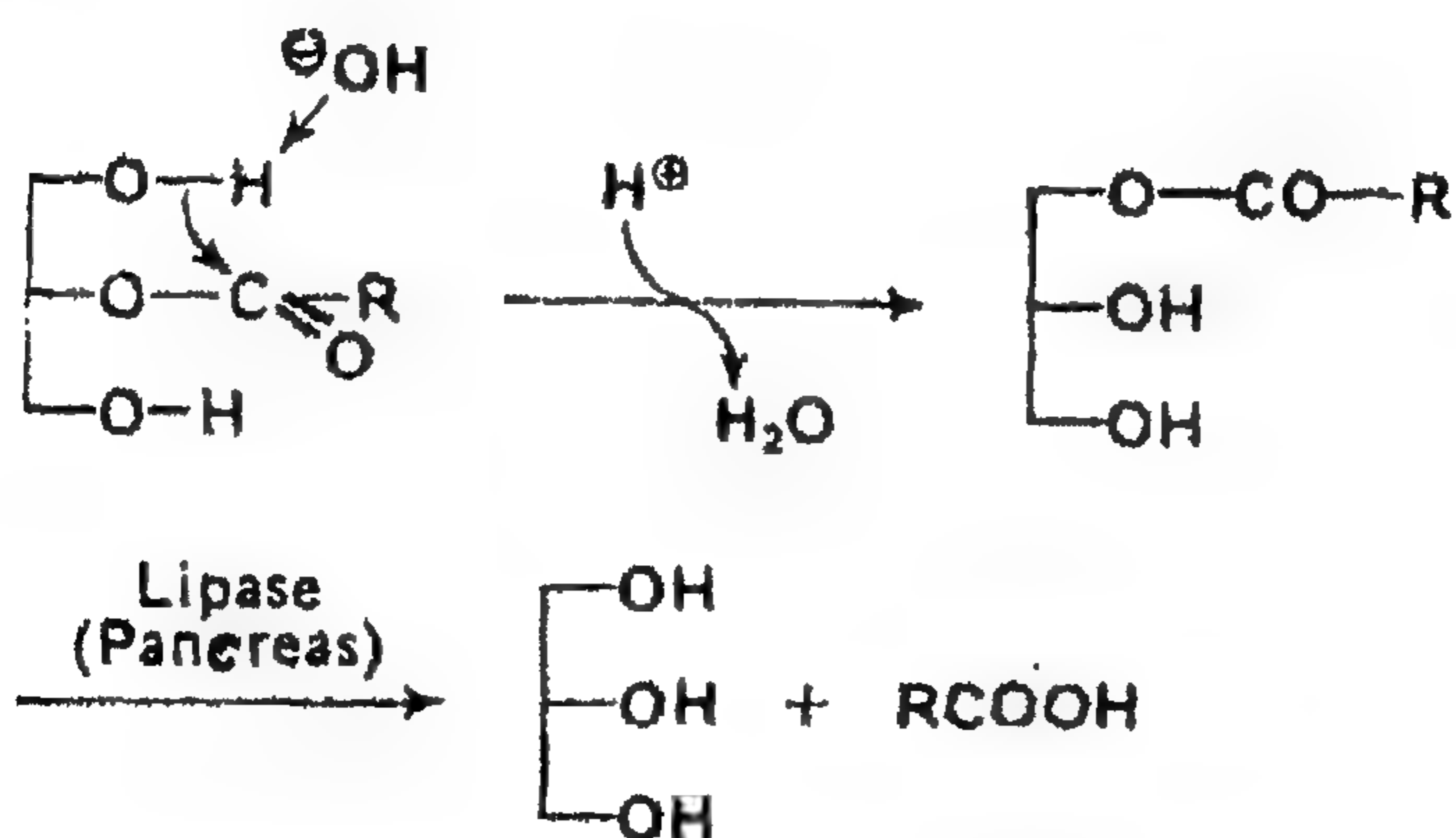
فإذا تم شطر آصرة الاستر عشوائياً بغض النظر عن موقعها، تكون النسبة المئوية لتحرر حامض الأوليك Oleic متساوية لكل من OPP pop وتمثل نصف ما هي عليه لتحرر الحامض ذاته من المركب POO. أما إذا كان المفضل مهاجمة الموقعين 1 و 3 فإن النسبة المئوية لتحرر حامض الأوليك متساوية تقريباً لكل من OPP POO وأكثر بكثير منها للمركب POP وهذا ما يلاحظ من الجدول (2-9).

جدول (2-9) توضيح لتخصص أنزيم الليباز البنكرياسي (للخنزير)

لموقع الأصرة التي يحفز تحليلها المائي

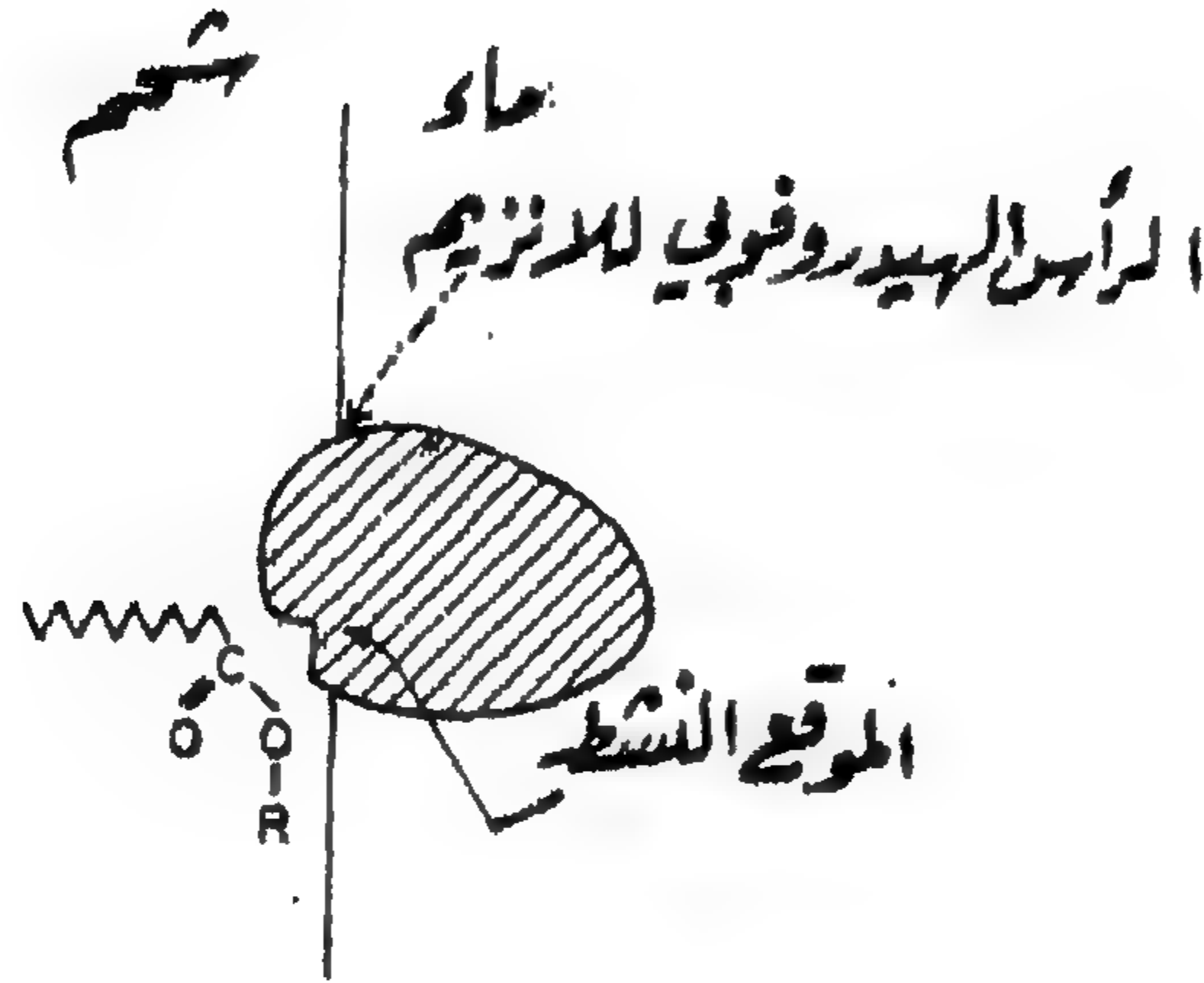
محتوى حامض الأوليك (مولات / 100 مول ركيزة)		الركيزة
أحماض دهنية حرة	أحاديات الكلسيريد	
5	89-87	1) 3 - Dipalmityl- 2- oleyl glyceride (pop)
51-46	4	2) 3 Dipalmityl-1- oleyl glyceride (opp)
53-58	86-76	2) 3 Dioleoyl - 1 - palmityl glyceride (poo)

إن التحلل المائي البطيء للأصرة في الموقع 2 يكون نتيجة لإنتقال الأسيل من هذا الموقع إلى الموقع 1 في $1=PH$ ويتبع ذلك التحلل المائي من هذا الموقع



(40-2) ...

يعمل ليباز البنكرياس فقط في الطور البيني شحم / ماء ويفترض بأن الراس الكاره للماء للأنزيم يثبت في قطرة الدهن من خلال التأثيرات interactions الكارهة للماء Hydrophobic بينما يوجه الموقع النشط للأنزيم إلى الأصرة الاسترية لجزيئة الركيزة (شكل 2-30).

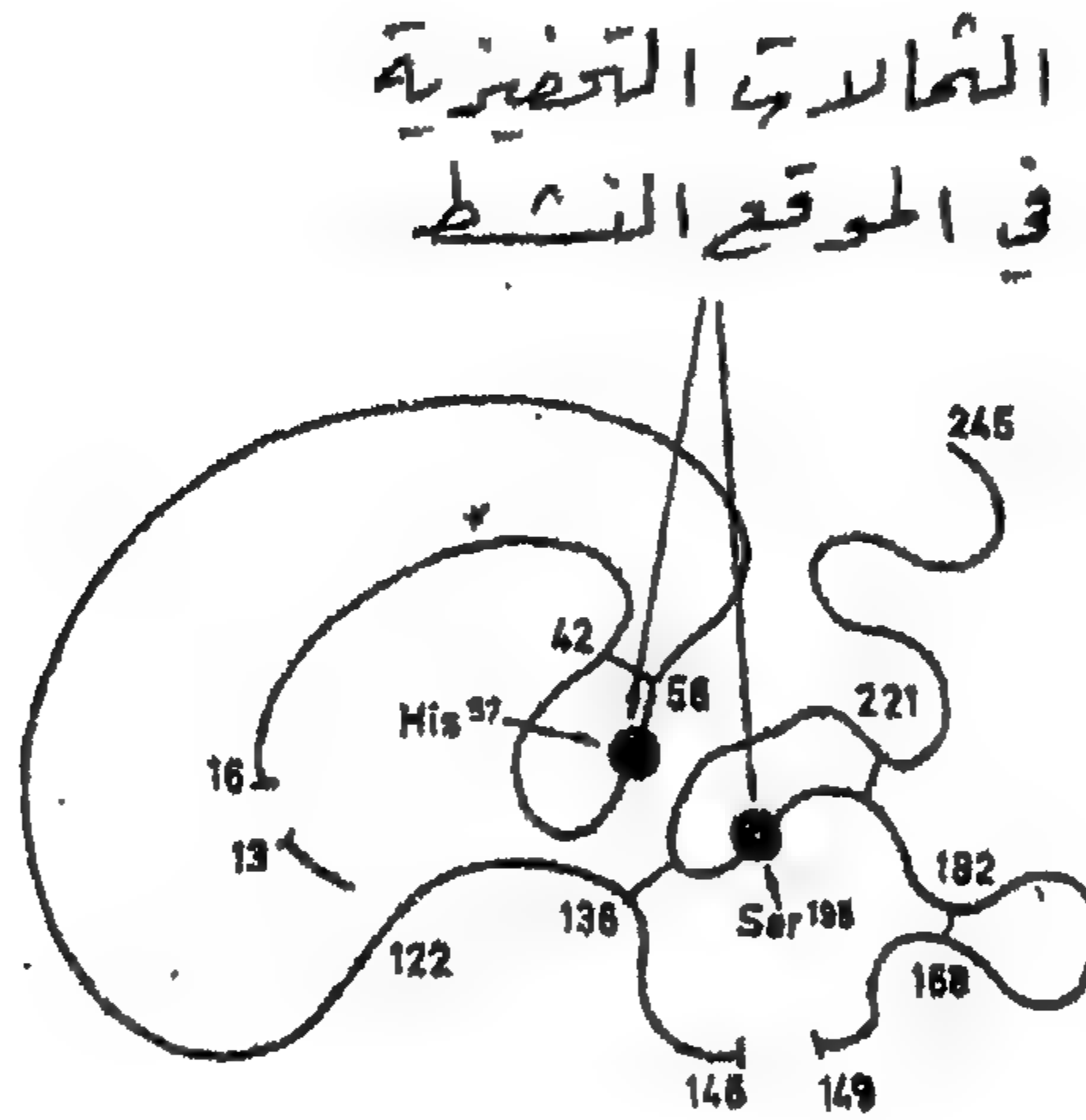


شكل 2-30: النموذج المقترح لتفسير فعالية ليباز البنكرياس في الطور البيني شحم / ماء

ولهذا فإن ليباز البنكرياس ذو نشاط واطيء تجاه ثلاثي الكلسيريد المسمى Triacetin لأنه ذائب، وتعتمد سرعة التحلل المائي للشحوم على طول سلسلة مجموعة الاسيل ويفضل ليباز البنكرياس مهاجمة الكلسيريدات الحاوية على حامض البيوتريك، ولقد لوحظ بأنه كلما كان الطور البيني (شحم/ماء) أكبر كانت قطرة الشحم أصغر ونشاط الأنزيم أكبر ولهذا يجب مراعاة هذه العلاقة عند تحضير مستحلب الركيزة وعند قياس نشاط الأنزيم.

2-1-8-2 الموقع النشط لأنزيم الليباز

يشبه الموقع النشط لأنزيم الليباز، الموقع النشط لبروتينازات السيرين
 serine Proteinases- حيث تتكسر الأصرة الاسترية باشتراك كل من
 الأحماض الأمينية serine و Histidine و Aspatic (شكل 2-31). تتشابه آلية
 التفاعل المحفز بأنزيم الكيموتريسين معها للتفاعل المحفز بأنزيم الليباز ويختلف
 أنزيم الليباز البنكرياسي عن أنزيمات serine proteinases- باحتوائه على
 الحامض الأميني Leucine الذي يرتبط بتأثيرات كارهة للماء
 Hydrophobically بالركيزة



شكل 2-31 ترتيب عديد الببتيد في جزيئة الكيموتريسين

يمكن تعجيل تفاعلات الليباز وخاصة في المراحل النهائية لتحلل ثلاثيات
 الكلسيريد باستعمال أيونات الكالسيوم (Ca^{++}) حيث يتم إزالة الأحماض
 الدهنية الحرة كألاح الكالسيوم غير الذائبة.

يشبه ليباز الحليب من حيث الصفات، ليباز البنكرياس. ولقد لوحظ بأن
 أنزيمات الليباز المنتجة من قبل الأحياء المجهرية عالية التخصص لكونها تحلل
 مائياً الأحماض الدهنية الحاوية على أواصر مزدوجة من النوع (cis) وفي الموقع 9

فقط. ومن الجدير بالاهتمام التحلل المائي لثلاثيات الكلسيريدي في الحليب بالفعل الضعيف لأنزيم الليباز مما يؤدي إلى تكوين مركبات النكهة. كما أن فعل ليباز القمح وأنواع أخرى من الحبوب يمكن أن يؤدي إلى فساد هذه المنتجات.

وقد تستخدم مستحضرات أنزيم الليباز المعزول من الأحياء المجهرية لصوبنة Saponification الشحوم وإبقاء المواد الفعالة مثل التوكوفيرول Vitamin E فعند استخدام أنزيم الليباز المستخرج من *Apergillusniger* أمكن تصبئة 93% من زيت الزيتون و91% من زيت أجنة القمح و86% من زيت بذور القطن و85% من زيت الصويا وعلى العكس ما ذكر يمكن تصبئة 48% فقط من دهن جوز الهند أنزيميا وذلك لاحتوائه على مركبات مثبطة لعمل الأنزيم مثل الأحماض الدهنية الهيدروكسيلية وحامض اللوريك Lauric وأحماض حاوية على أواصر مزدوجة متبادلة bonds Conjugated double

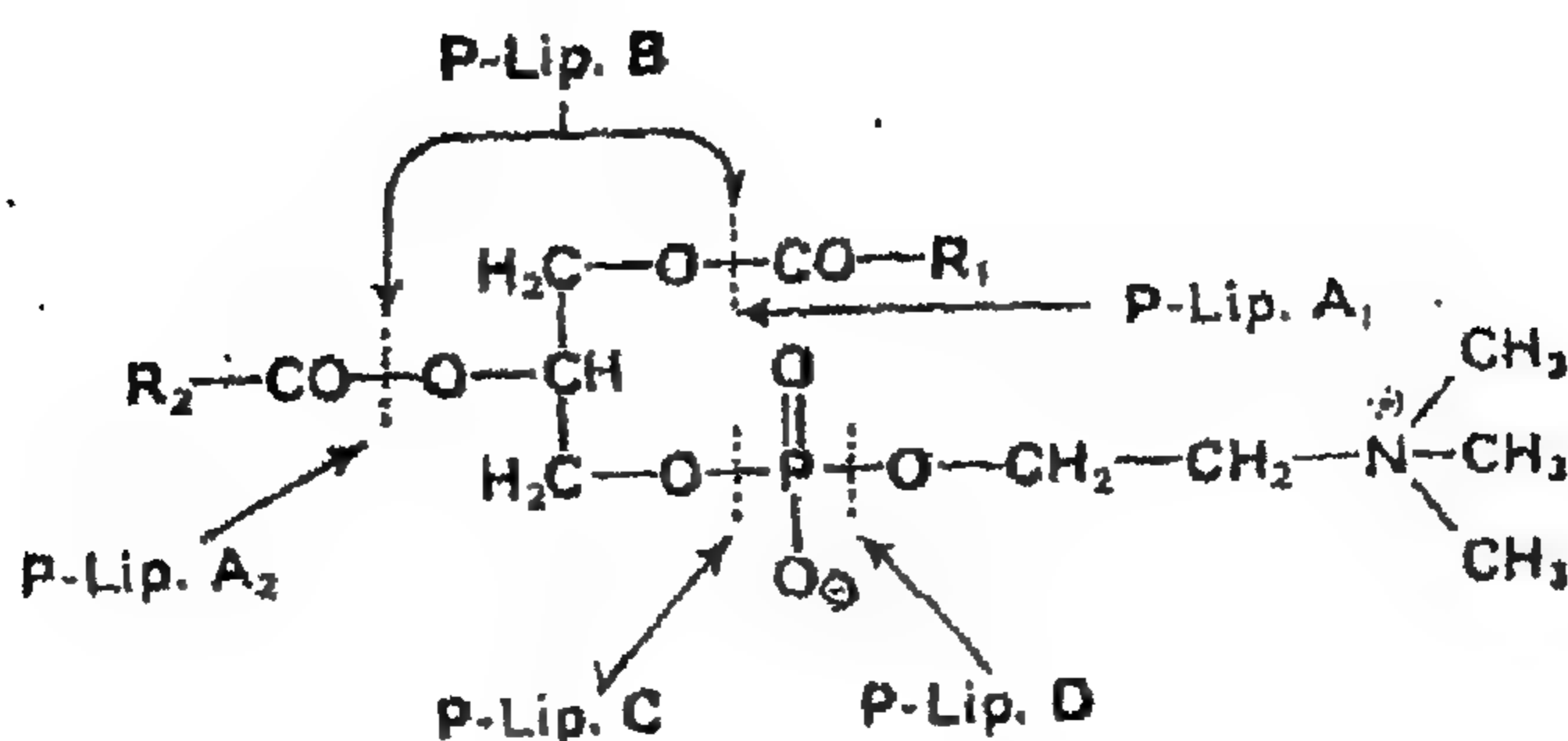
2-8-2 أنزيمات التحلل المائي للشحوم القطبية Polar lipids

تدعى هذه الأنزيمات نسبة إلى ركائزها وكمثال phospholipases و

Glycolipid hydrolases

phospholipases 1-2-8-2

وهي الأنزيمات التي تحلل مائياً الفسفاتيديات وتكون ذات خصوصية عالية وتستخدم للتعرف على تركيب الفسفاتيديات يبين الشكل (2-32) مواقع عمل الفسفوليبيازات A₁ و A₂ و B و C و D.



شكل (2- 32) مواقع فعل الفسفوليپازات: A_1 ، A_2 ، B و C و D.

Phospholipase A_1 (Ec 3.1.1.32): تم فصل هذا الأنزيم من مخ الفئران ويعمل على تحرير الحامض الدهني في الموقع 1 من مركبات اللستين و Lyso-lecithin.

phospholipase A_2 (Ec 3.1.1.4): يعمل هذا الأنزيم على تحرير الحامض الدهني في الموقع (2) وقد تم فصله من بنكرياس الخنزير وسم الأفاعي.

Phospholipase B (EC 3.1.1.5): يحرر هذا الأنزيم الدهني في الموقع 1 و 2 من المركبات Lyso-phosphatides وقد أمكن فصل الأنزيم من مخ الفئران- بينما لا يوجد فيه phospholipase A ولم يمكن العثور لحد الآن على أنزيم النباتات.

وفي الأدبيات القديمة، سمي الأنزيم المحرر لكلا الحامضين الدهنيين من فسفاتيد T باسم phospholipase B ولقد وجد مثل هذا الأنزيم في الشعير.

Phospholipase C (Ec 3.1.4.3) ويحلل مائياً اللستين إلى 2.1-Diacylglyceride و phosphorylcholine وقد تم الحصول عليه من سم الأفاعي والبكتريا.

Phospholipase D (Ec 3.1.4.4) وينقل جزء الفسفاتيد إلى جزيئة ماء أو كحول (ايتانول أو ميثانول أو كليسيرول) كما في المعادلة (2-41)



... (2-41)



لا يعمل هذا الأنزيم على المركب فسفاتيديل - انوستول inositol phosphatidyl- وينتشر في الحبوب مثل القمح والحنطة السوداء وكذلك في البقوليات كما تم استخلاصه من القول السوداني.

ملاحظة: يتضح ما تقدم بأن فسفوليپاز C و D من أنزيمات الفسفاتاز phosphatases وبعبارة أدق phosphodiesterases فيما تعد فسفوليپاز A₁ و A₂ و B أنزيمات التحلل المائي للاسترات الكربوكسيلية Carboxylic ester hydrolases وسوف نتناول أنزيمات الفسفاتاز لاحقاً.

2-2-8-2 Glycolipid- hydrolases :

يوجد في الأجزاء الخضراء للنباتات أنزيمات تحرر الحامض الدهني من Monogalactosyl- diacylglycerides و Digalactosyl- diacylglycerides. أظهرت أنزيمات الهدرولاز Hydrolases المعزولة من البطاطا بأن هناك أنزيمات في النباتات تستطيع أن تحلل مائياً الشحوم القطبية، ويفضل أنزيم البطاطا فلق ثمالة Residue الحامض الدهني من الكلسيريدات أحادية الاسيل glycerides-Monacyl و Lysolecithin ولكنه لا يعمل على المركب Triolein (لاحظ الجدول (2-10)).

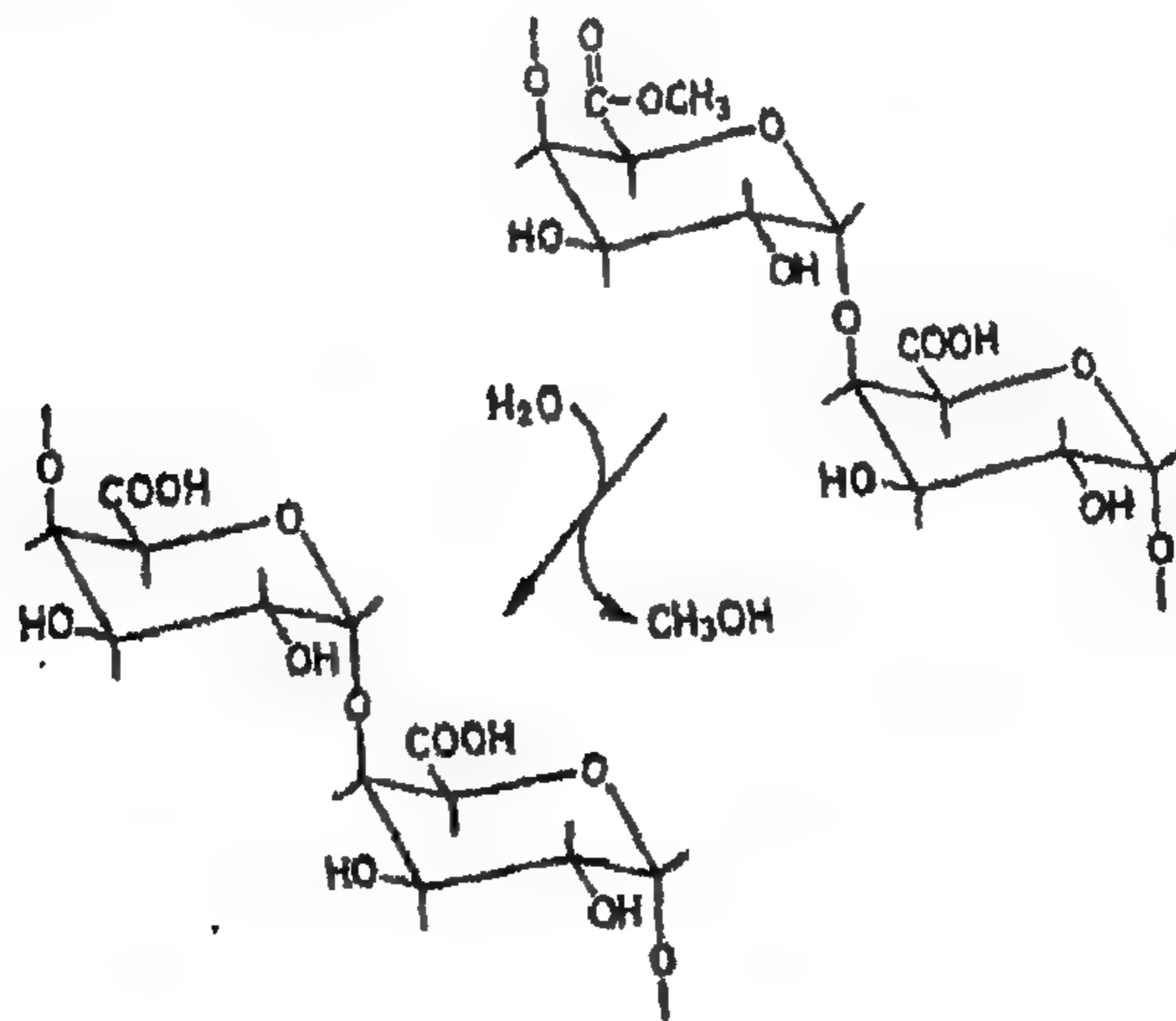
جدول (2-10) التخصص لركيزة أنزيم الـ Acylhydrolase المنقى من البطاطا

النسبة المئوية للنشاط النسبي	الركيزة (Substrate)
100	Mono- oleim
21	Dirolein
.20	Trioleim
28	Oleic acid methyl ester

النسبة المئوية للنشاط النسبي	الركيزة (Substrate)
72	Lyso-lecthin
13	Lecithin
31	Mono- galactosyl- diacylglyceride
17	Digalactosyl-diacylglyceride
17	

pectin pectylhydrolase -Ec 3.1.1.11 pectinesterases 3-8-2

وتتنمي إلى مجموعة الأنزيمات التي تحلل مائياً أو اصراً استر الكربوكسيل وتزيل مجاميع الميثوكسيل المؤشرة في كربين رقم (6) من البكتين Pectin محولة إياه إلى حامض البكتك كما في المعادلة (2-42) تزيل الأنزيمات pectinesterase فقط مجاميع الميثوكسيل القريبة أو المجاورة من مجموعة كربوكسيل حرة علماً بأن هذه الأنزيمات تهاجم البكتين المؤستر كلياً بالميثانول بصورة بطيئة جداً.



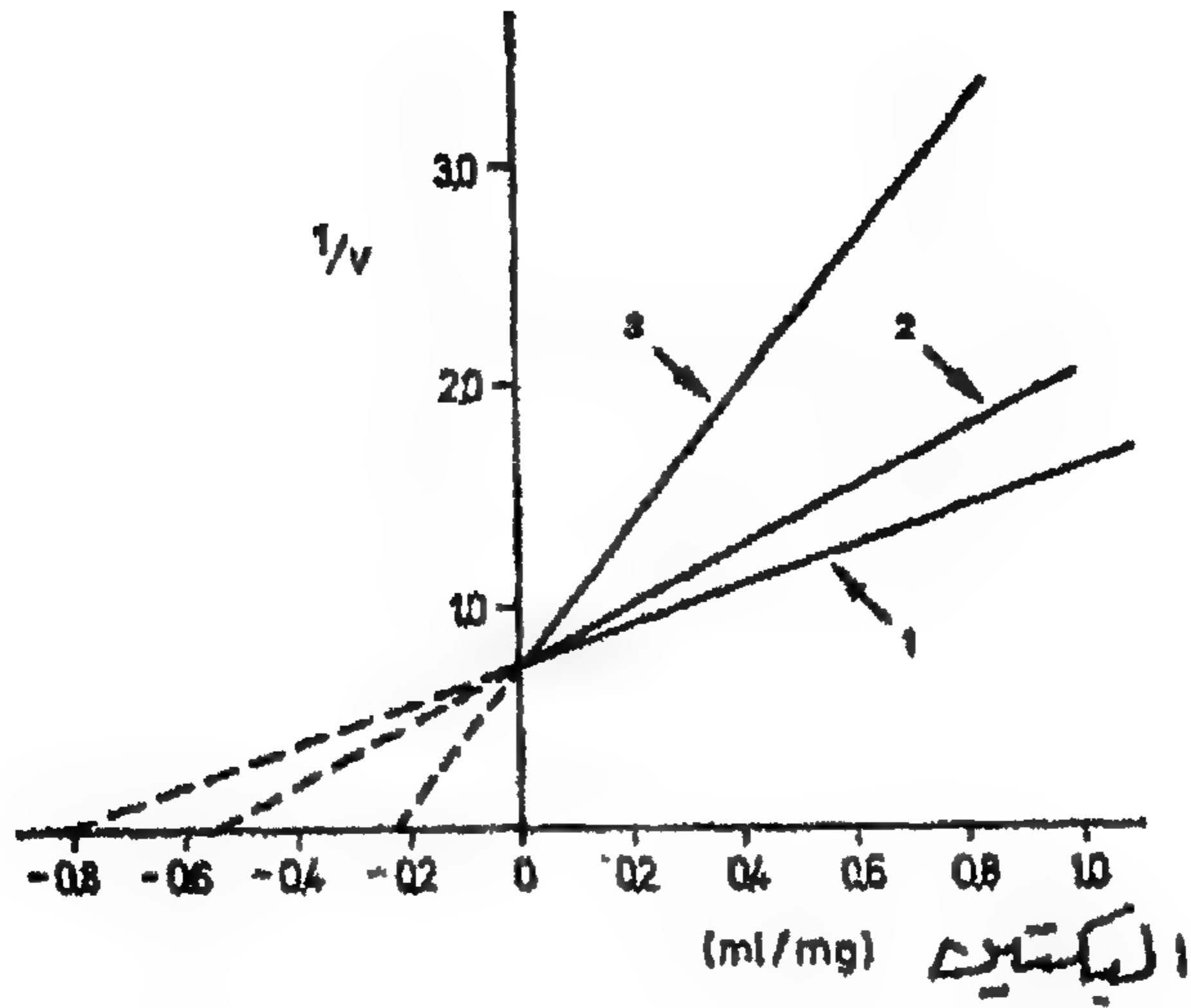
.... (2-42)

تكون أنزيمات البكتين النباتية مقاومة للحرارة أكثر من أنزيمات العفن ويمكن قياس النشاط الأنزيمي في محيط حامضي دون إضافة داريء Buffer. يلعب الأنزيم pectinesterase دوراً في تكنولوجيا الأغذية إذ يوجد مع الأنزيمين polygalacturonase و pectate lyase في العفن A. niger تفصل هذه الأنزيمات سوية وتستخدم لتحسين كفاءة ترشيح عصير الفواكة وترويقه وتسمى الأنزيمات الثلاثة مجتمعة، أنزيمات الترشيح Filtration enzymes.

غالباً ما يستخدم مستحضر الأنزيم pectinesterase الحالي polygalacturonase و pectate lyase، لتحضير بكتين درجة استرته واطئة وذو وزن جزيئي منخفض يصلح لتحضير الهلام (Gel)

يكون حامض البكتيك pectic acid الناتج عن فعل أنزيم pectinesterase مع أيونات الكالسيوم، أملاح صعبة الذوبان في عصير الحمضيات وهذا يؤدي إلى ترسبات غير بلورية Amorphous غير مرغوب فيها. إن استخدام درجة حرارة عالية (90°م) يمنع تكون الترسبات المذكورة إلا أنه يتكون نكهة خاصة غير مرغوب ويمكن تحسين الحالة بالطريقة الآتية:

يمكن تثبيط الأنزيم تنافسياً (شكل 2-33) باستعمال الأحماض مثل Oligogalacturonic و pectic acid وتؤدي هذه الإضافات إلى استقرار الضبابية stability Cloud في عصير الحمضيات ولا تتكون الترسبات آتفة الذكر علما بأن استقرار الضبابية مرغوب فيه عند تصنيع عصير الفواة المركز ومعجون الطماطا، ويجب ألا ننسى بأن الأنزيم pectinesterase مسؤول عن تكوين الميثانول في المشروبات الروحية وعصير الفواكه.

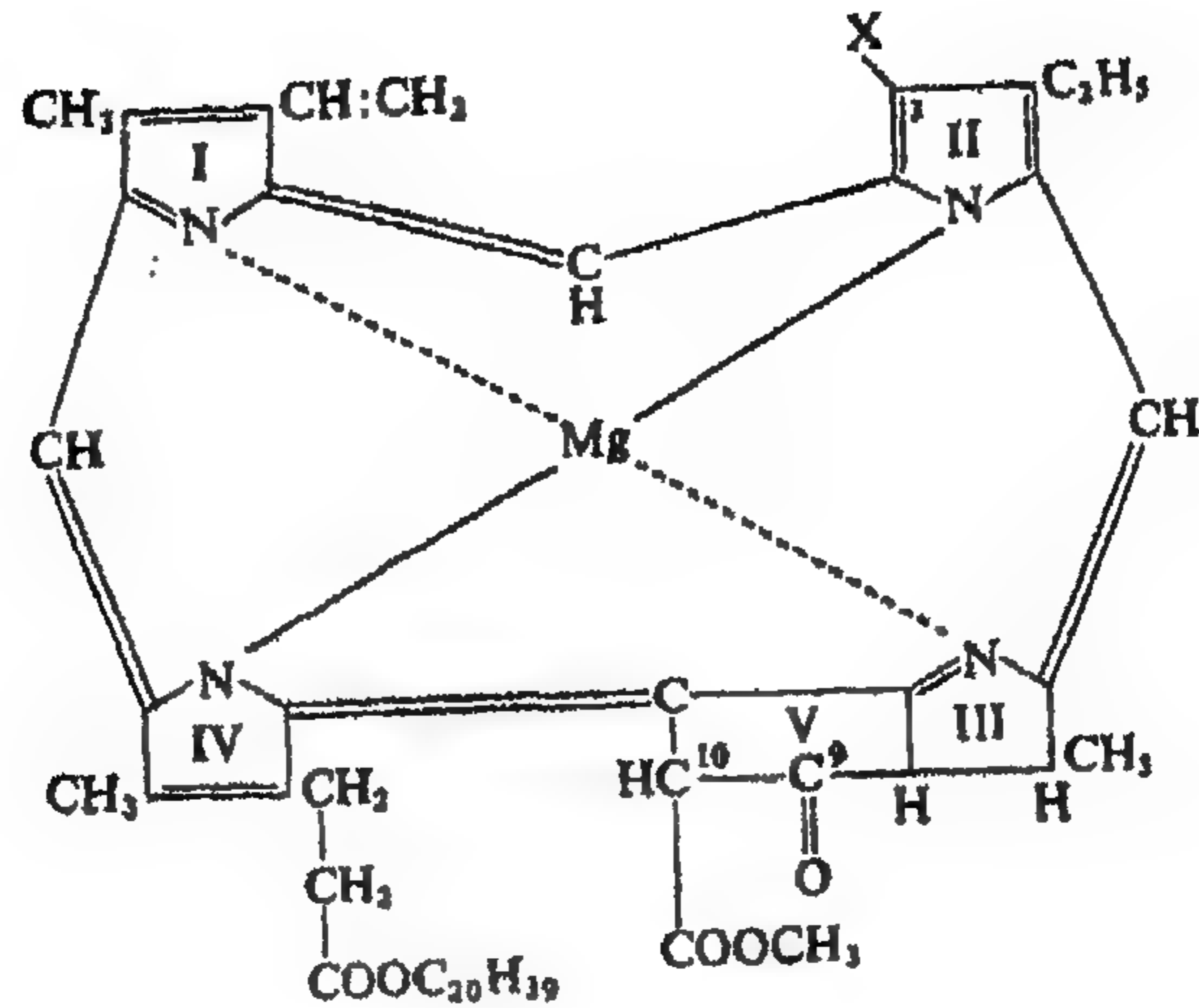


شكل (2- 33) تثبيط انزيم Pectinesterase البرتقال بوجود الأحماض المثبطة (1) لا يوجد مثبط، (2) بوجود Octagalacturonic acid و Heptagalacturonic acid (3) بوجود حامض البكتيك Pectic acid.

تختلف الأنزيمات pectinesterase عن بعضها في الرقم الهيدروجيني الأمثل حيث يبلغ لأنزيمات العفن حوالي (5) وللأنزيمات النباتية حوالي 7 ولأنزيمات البكتريا 8 تقريباً كما تختلف هذه الأنزيمات في سلوكها تجاه المثبطات.

4-8-2 (Chlorophyll chlorophyllide hydrolyase) chlorophyllase

يحلل هذا الأنزيم مجموعة الفايتل phytol group من الكلوروفيل شكل (2-34) ليعطي المركبين فايتول phytol وكلوروفيللايد chlorophyllide



شكل (2- 34) تركيب الكلوروفيل أ و ب في كلوروفيل أ تكون X مجموعة مثيل وفي كلوروفيل ب تكون CHO ...

يعتقد بأن الكلوروفيل في النبات يرتبط بالبروتينات الشحمية Lipoproteins مما يقيه من تأثير الأحماض الموجودة بصورة طبيعية في أنسجة النبات، وعند استعمال الحرارة يتخثر Coagulate الجزء البروتيني وبذلك يتعرض الكلوروفيل لتلك الأحماض.

2-8-5 أنزيمات الفسفاتاز phosphoric hydrolases or phosphatases

تحفز هذه الأنزيمات التحلل المائي للأصرة الاسترية التي يكون مصدر الجزء الحامضي فيها حامض الفسفوريك، وتعد المركبات phosphodiester و phosphotriester ركائز لجميع الأنزيمات phosphoric monoester hydrolase و phosphoric diester hydrolase و phosphoric triester hydrolase على التوالي.

يعد الحليب والبطاطا والخمائر من المصادر المهمة لأنزيمات الفسفاتاز وتلعب هذه دوراً في تحليل الأغذية يمكن الكشف عن المعاملة الحرارية للحليب بتقدير نشاط أنزيم الفسفاتاز فإذا لم يستدل عليه كان الحليب معاملاً بالحرارة. تنتمي الأنزيمات فسفوليپاز C و D التي مر ذكرها سابقاً ضمن أنزيمات التحلل المائي للشحوم القطبية - إلى أنزيمات الفوسفاتاز وتلعب دوراً في التحولات الأنزيمية في المعجنات الحاوية على البيض.

phosphoric monoester hydrolasees, Ec 3.1.3 1-5-8-2

وتتضمن مجموعتين:

المجموعة الأولى: وتتميز بتخصص واسع تجاه الركائز فهي تعمل على أصرة الاستر للمركب العضوي أحادي الفسفات وتأتي أهمية ثمالة الكحول بالمرتبة الثانية ولهذا تسمى هذه الأنزيمات غير المتخصصة Non-Specific phosphatases.

المجموعة الثانية: وتكون أعلى تخصصاً من سابقتها إذ تتخصص تجاه ثمالة الفسفات وثمالة الكحول ولهذا تسمى فسفاتازات متخصصة Specific phosphatases.

أنزيمات الفسفاتاز غير المتخصصة non-Specific phosphatases

يمكن تقسيمها استناداً إلى الرقم الهيدروجيني الأمثل إلى:

أ- أنزيمات الفسفاتاز القاعدية Alkaline phosphatases ويكون الرقم الهيدروجيني الأمثل لها بين 9 و 10 اعتماداً على مصدر الأنزيم.

ب- أنزيمات الفسفاتاز الحامضية: ويتراوح الرقم الهيدروجيني الأمثل لفعاليتها بين 3.5 و 5 اعتماداً على مصدرها.

توجد أنزيمات الفسفاتاز غير المتخصصة في جميع أنسجة الكائنات الحية. يوجد الفسفاتاز القاعدي بتركيزات عالية في غدد الثدييات المدرة للحليب وفي

الكلى، ويحتوي مصل الإنسان الطبيعي على كلا الأنزيمين. يوضح الجدول (11-2) التخصص النسبي للركيزة لأنزيمات الفسفاتاز الحامضية من المصادر الثلاثة: الخميرة وكريات الدم الحمراء البروستات Prostate.

يتضح من الجدول بأن التخصص الأنزيمي يكون على أشده لأنزيم الخميرة إذ يحلل مائياً ركيزتين فقط α -glycerophosphate و β -propanediol phosphate. بسرعة يمكن تقديرها فيما يظهر أنزيم البروستات أولاً درجة التخصص. تكون أنزيمات الفسفاتاز الحامضية لكريات الدم الحمراء والبروستات عالية النشاط تجاه الركيزة فسفات الفينول phenyl phosphate فيما تظهر أنزيمات الخميرة وكريات الدم الحمراء تخصصاً موقعياً يشاهد من المعدل النسبي للتحلل المائي لكل من α -Glycerophosphate و β -glycerophosphate. (جدول 11-2).

جدول (11-2) التخصص النسبي للركيزة لأنزيم الفسفاتاز الحامضي من المصادر الثلاثة: الخميرة وكريات الدم الحمراء والبروستات.

الفعالية النسبية			الركيزة بتركيز 0.01 مولار
البروستات في pH=5.5	كريات الدم الحمراء في pH=6.0	الخميرة في pH=6.5	
100	100	1	Phenyl phosphate
69	33	100	α -Glycerophosphate
84	2	1	β -Glycerophosphate
53	17	76	Propanediol phosphate-1
ضئيلة جداً	4	صفر	phosphoglycerate-3
19	1	صفر	Glucose 1-phosphate

الفعالية النسبية			
ضئيلة	صفر	صفر	Glucose 6- phosphate
41	8	صفر	Ribose 5- phosphate
35	40	صفر	Riboflavin 5- phosphate
95	1	صفر	Adenosine phosphate (2 + 3)
94	2	صفر	Cytidine phosphate (2+3)
60	3	صفر	phosphate-Adenosine 5
صفر	صفر	صفر	Adenosine triphosphate
صفر	1	1	Sodium pyrophosphate
صفر	صفر	صفر	Diphenyl phosphate

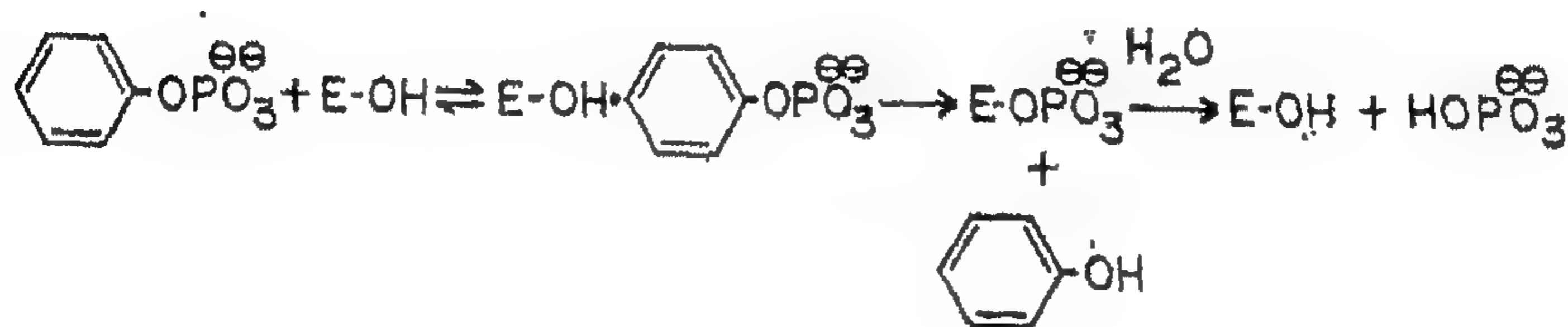
يحلل أنزيم الفسفاتاز الحامضي للبروستات عدداً من النيوكليوسيدات الفسفاتية بينما لا يستطيع ذلك أنزيم كريات الدم الحمراء والخميرة.

تتطلب الأنزيمات الثلاثة (جدول 2-11) وجود أحادي استر الفسفات phos- Phoric monosester ويتضح من عدم مقدرة جميعها على التحلل المائي لثلاثي فسفات الادينوسين ATP ويروفوسفات الصوديوم Sodium pyrophosphate وثنائي فسيل الفسفات Diphenyl phosphate.

لا تثبط معظم أنزيمات الفسفاتاز الحامضية بالعوامل المستخلبة للمعادن Metal Chelating agents ولكنها تثبط بحامض الفسفورك. تثبط بعض أنزيمات الفسفاتاز الحامضية بأيون المغنيسيوم. وعلى العكس من أنزيمات الفسفاتاز الحامضية، تثبط أنزيمات الفسفاتاز القاعدية بالعوامل المستخلبة مثل Pyrophosphate و phenanthroline O- و α , α -Dipyridyl, EDTA-x

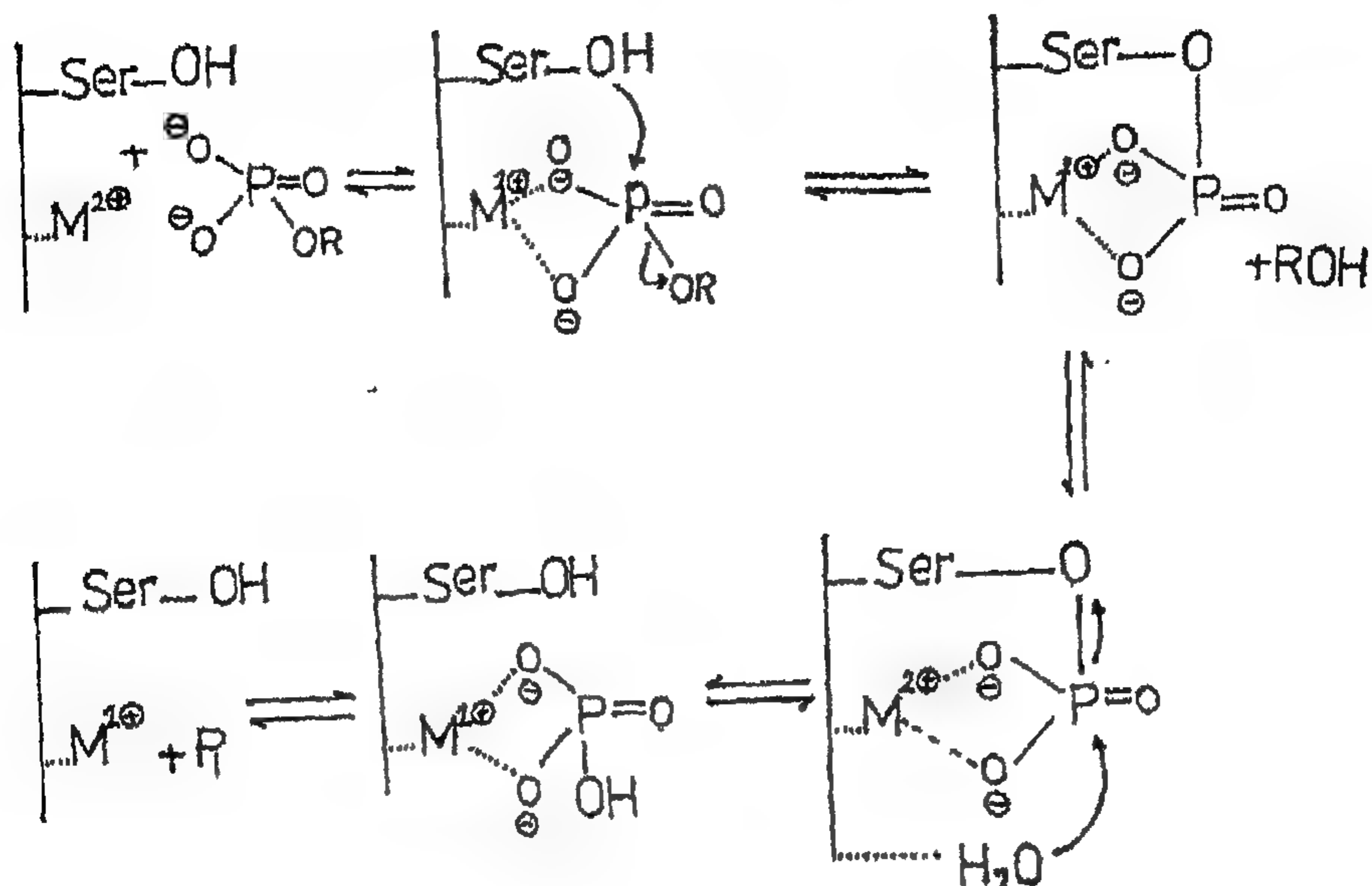
وBorate وCarbonate. ويحتوي عدد منها على أيون الزنك فيما يوجد Fe^{+2} Mn^{+2} أو Mg^{+2} في بعضها الآخر.

إن أحسن الدراسات التي جرت حول أنزيم الفسفاتاز القاعدي تناولت أنزيم البكتريا E.Coli ذي الوزن الجزيئي 80000. يحتوي هذا الأنزيم على أيونين من الزنك Zn^{+2} ويثبط بالمركب ثنائي ايزوبروبيل فلوريد الفسفات DEP، يتجزأ الأنزيم إلى دون وحدتين Subunits غير نشطتين بوزن جزيئي 40.000 عند معاملة الأنزيم بالحامض Thioglycolic و 6 مولار يوريا، ويسترجع الأنزيم نشاطه عند إزالة اليوريا عن طريق الديليزة Dialysis أو بواسطة كروماتوغرافيا الترشيح الهلامي Gel Filtration أو عند ترك الأنزيم في الهواء حيث يعاد تكوين الأواصر (S-S-). ويمكن توضيح الآلية العامة لأنزيم الفسفاتاز القاعدي لبكتريا E.Coli في المعادلة (2-43) إذ يتكون معقد الأنزيم-الركيزة الذي يتفكك لإعطاء الأنزيم المثبط تساهمياً بمجموعة الفسفات، والمركب العضوي الكحولي. وعند التحلل المائي، تتحرر مجموعة الفسفات والأنزيم بصيغته الأصلية.



... (2-43)

ويمكن تفصيل آلية التفاعل في الشكل (2-35). تلمح هذه الآلية إلى تأثير ثمالة حامض الفسفورك للركيزة مع الأيون الموجب ثنائي التكافؤ في الموقع النشط للأنزيم (المعقد I). يتبع ذلك هجوم نيوكليوفيلي Nucleophilic على ذرة الفسفور من قبل أوكسجين مجموعة الهيدروكسيل لثمالة السرين في الموقع النشط.



شكل (2- 35) الآلية المقترحة للفعل التحفيزي لأنزيم الفسفاتاز القاعدي.

يتضح التخصص الواسع لأنزيم البكتريا E.Coli في الجدول (2-12) يكمن التخصص الحقيقي الوحيد للأنزيم في تمالة الاورثوفوسفات المرتبطة إلى الجزء العضوي للركيزة بأصرة C-O-P ولا يحلل الأنزيم مائياً الأصرة N-P أو الميتافوسفات Metaphosphate أو ثنائي الفوسفات Diphosphate

جدول (2-12) النشاط النسبي لأنزيم الفسفاتاز القاعدي للبكتريا E.Coli

تجاه الركائز الفسفاتية المختلفة

الركيزة	السرعة النسبية	الركيزة	السرعة النسبية
p-Nitrophenyl phosphate	1.0	Uridine phosphate	1.3
β- Glycero- phosphate	0.9	Riboflavin 5- phosphate	0.7
Glucose 1- phosphate	0.9	L- Histidinol phosphate	0.9
Adenosine 3- phosphate	1.0	Creatine phosphate	صفر

الركيزة	السرعة النسبية	الركيزة	السرعة النسبية
Adenosine 5- phosphate	0.8	Adenosine triphosphate	صفر
Cytidine phosphate	1.2	Sodium pyrophosphate	صفر
Guanosine phosphate	1.0		

طرق قياس نشاط أنزيمات الفسفاتاز القاعدية والحامضية

هناك عدة طرق لتعيين النشاط الأنزيمي وأهمها:

- 1- استعمال P-Nitriphenyl phosphate بمثابة ركيزة ثم قياس معدل سرعة تكوين p-Nitrophenol بطرق طيفية (عند طول موجي 340 نانوميتر) إذا كان الرقم الهيدروجيني أقل من 7 وعند 400 نانوميتر إذا كان أكبر من 7).
- 2- قياس معدل سرعة تكوين الاوثوفسفات بإستعمال طريقة Fiske و Subba Raw (أو بطرق مماثلة) وتستخدم فسفات الفينيل phenyl phosphate أو Glycerophosphate وهي مواد غير مولدة للأصباغ Non- chromogenic بمثابة ركائز للأنزيم.
- 3- استعمال Naphtyl phosphate وقياس معدل سرعة تحرر المركب Naphtol وذلك بربطه مع الأصباغ مثل مشتقات ديازو Diazo للنفثيل امين Naphtylamine و O-Dianisidine Amine و Benzidine و Paranitroaniline

الاستخدامات التطبيقية لأنزيمات الفسفاتاز

- 1- يثبط أنزيم الفسفاتاز الحامضي بشدة بأيون الفلوريد (F) ولهذا يستخدم الأنزيم لتقدير الكميات الصغيرة جدا من الفلوريد في مياه الشرب.
- 2- يوجد الفسفاتاز الحامضي والقاعدي سوياً في كثير من الأغذية كالحليب ويستخدم الفسفاتاز القاعدي (الرقم الهيدروجيني الأمثل 9-10) للكشف عن معاملة الحليب بالحرارة إذ يتلف عند تسخين الحليب لمدة 30 دقيقة بدرجة

حرارة 36-37°م. كما يوجد الفسففاتاز القاعدي في الأحياء المجهرية التي تنمو على منتجات الحليب مثل الجبن (إذ يلاحظ تكون طبقة على السطح نتيجة لنمو الأحياء المجهرية)، ويمكن التمييز بينه وبين أنزيم الحليب من حيث مقاومته للحرارة فإذا أظهر الحليب المعامل بالحرارة (كما ذكر أعلاه) فعالية أنزيم الفسففاتاز القاعدي فأن هذا يدل على تلوثه.

3- يوجد أنزيم الفسففاتاز القاعدي والفسفاتاز الحامضي في البيض ويكون للأخير نشاط أعلى. تحرر أنزيمات الفسففاتاز مجاميع الفسففات في البيض المخزون لمدة طويلة وربما تحرر الفسففات من البروتينات الفسفافية لذا فإن كمية حامض الفسفوريك الذائب في الماء يحدد فترة خون البيضة بعد الإنتاج وبكلمة أخرى يميز البيضة الطازجة من غير الطازجة.

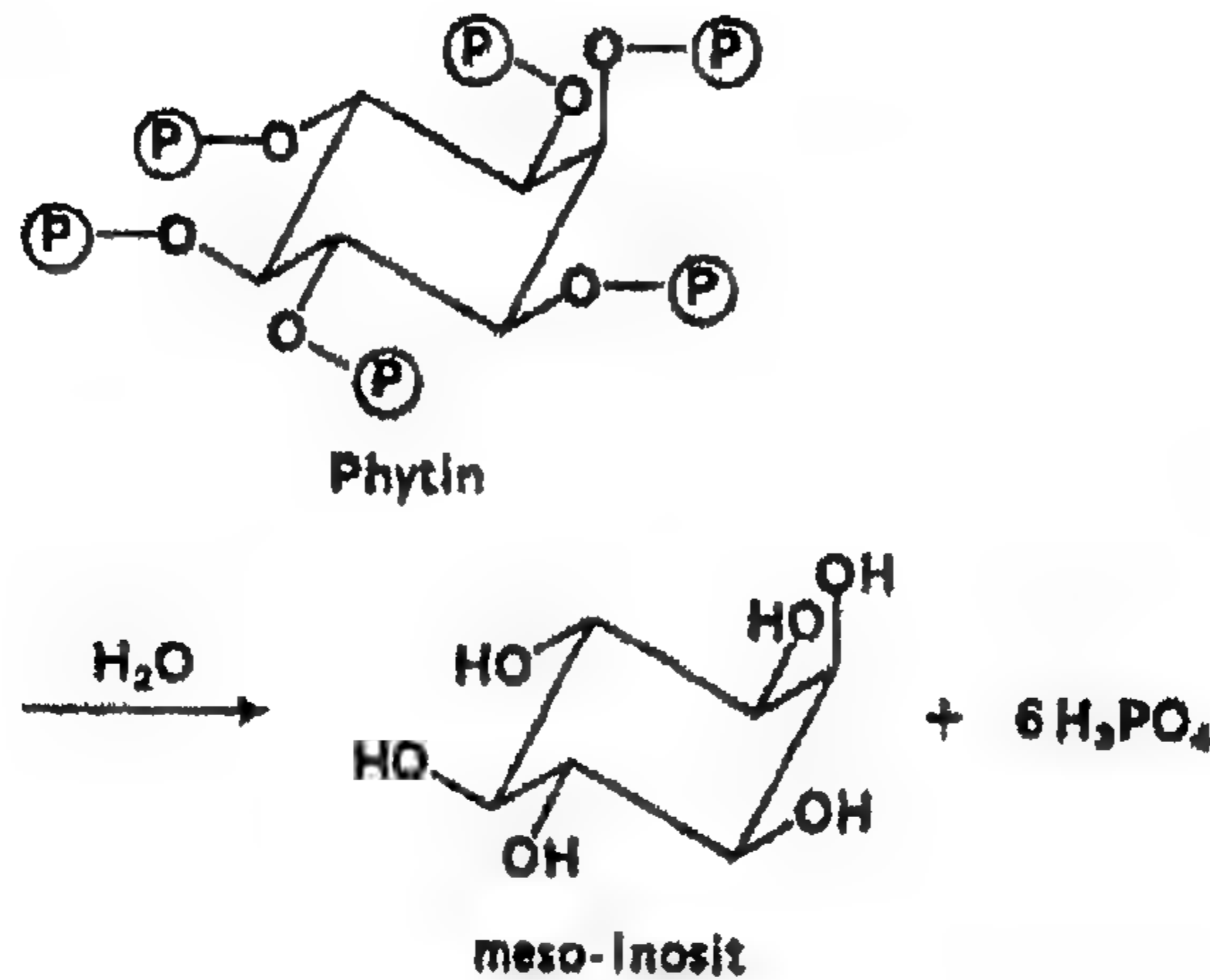
أنزيمات الفسففاتاز المتخصصة لأحاديات أستر الفسففات

Specific phosphoric monoesterases

على العكس من أنزيمات الفسففاتاز الحامضية والقاعدية، هناك أنزيمات فوسفاتاز متخصصة لأحاديات الاستر الفسفافية ويظهر تخصصها للجزأين الكحولي والفسفاتي لجزيئة الركيزة. تمتلك هذه الأنزيمات عادة رقماً هيدروجينياً أمثل يتراوح بين 6 و8. وتشمل هذه المجموعة من الأنزيمات على أنزيم Glucose-6 phosphatase و Glucose-1 phosphatase و Hoxose phosphatase و 5-Nucleotidase و 3-Nucleotidase. ويحفز الأخيران التحلل المائي لمجموعة الفسففات من 3 و5- ريبونيوكليوتيدات الناتجة عن التحلل المائي الأنزيمي Phosphoric diester hydrolase للحامض RNA.

هناك أنزيم آخر ذو خصوصية واطئة للتحلل المائي لأحادي أستر الفسففات وذو أهمية خاصة للكيميائي الغذائي ويسمى أنزيم الـ Phytase إذ يعمل على الركيزة phytin (معادلة 2-449) واسعة الانتشار في النباتات وقد يعمل (أي

لفايتين) بمثابة الخازن للفسفات، إذ تبلغ نسبتها فيه حوالي 70% في القمح. ومن لناحية الغذائية يكون الفايتين غير مرغوب فيه حيث يمنح إمتصاص لكاليوم من الأمعاء.

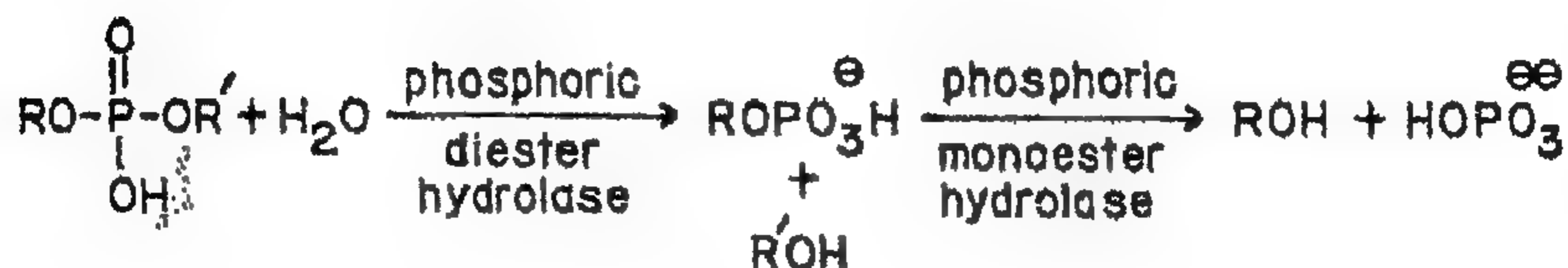


(44 -2) ...

2-5-8- أنزيمات التحلل المائي لثنائي أسترات الفسفات

Ec. 3.1.4. Phosphoric diester hydrolases

تحلل مائياً هذه المجموعة من الأنزيمات آصرة واحدة أو آصرتي إستر فسفاتيتين كما في المعادلة الآتية (2-45):

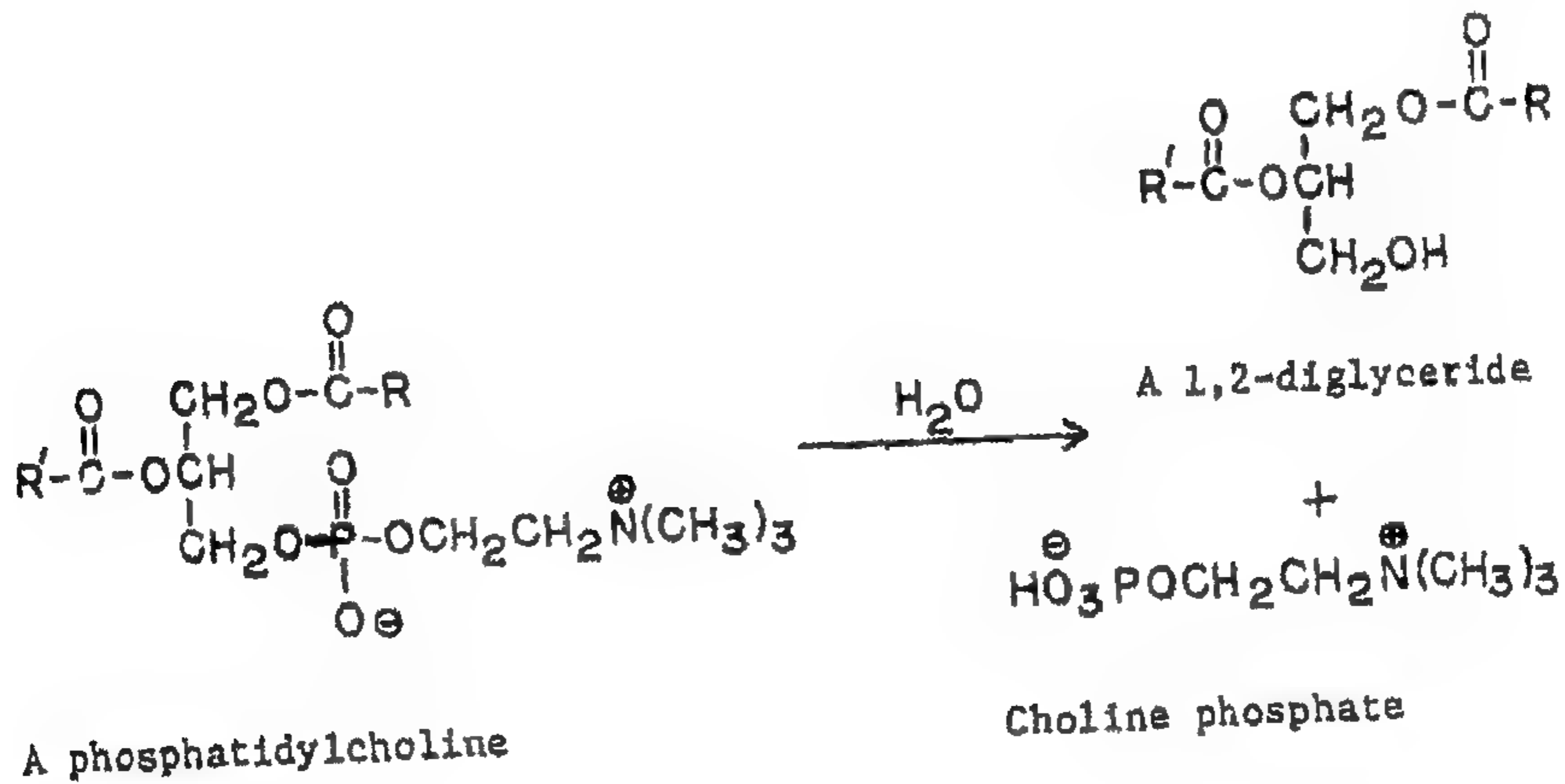


(45 -2) ...

من الممكن نظرياً التمييز بين هذه المجموعة من الأنزيمات وأنزيمات التحلل المائي لأحادي أسترات الفسففات باستخدام الركيزتين phenyly phosphate و Diphenyl Phosphate إلا أنه لا تعمل جميع أنزيمات المجموعة الواحدة على هاتين الركيزتين.

من أهم أنزيمات هذه المجموعة، أنزيمات التحلل المائي للأحماض النووية والأنزيمات المحللة لأواصر معينة ثنائية أسترات الفسففات للشحوم الفسفافية وكمثال الأنزيم C phos-pholipase - المحفز للتحلل المائي لمركب اللستين Lecithin, phosphatidyl choline

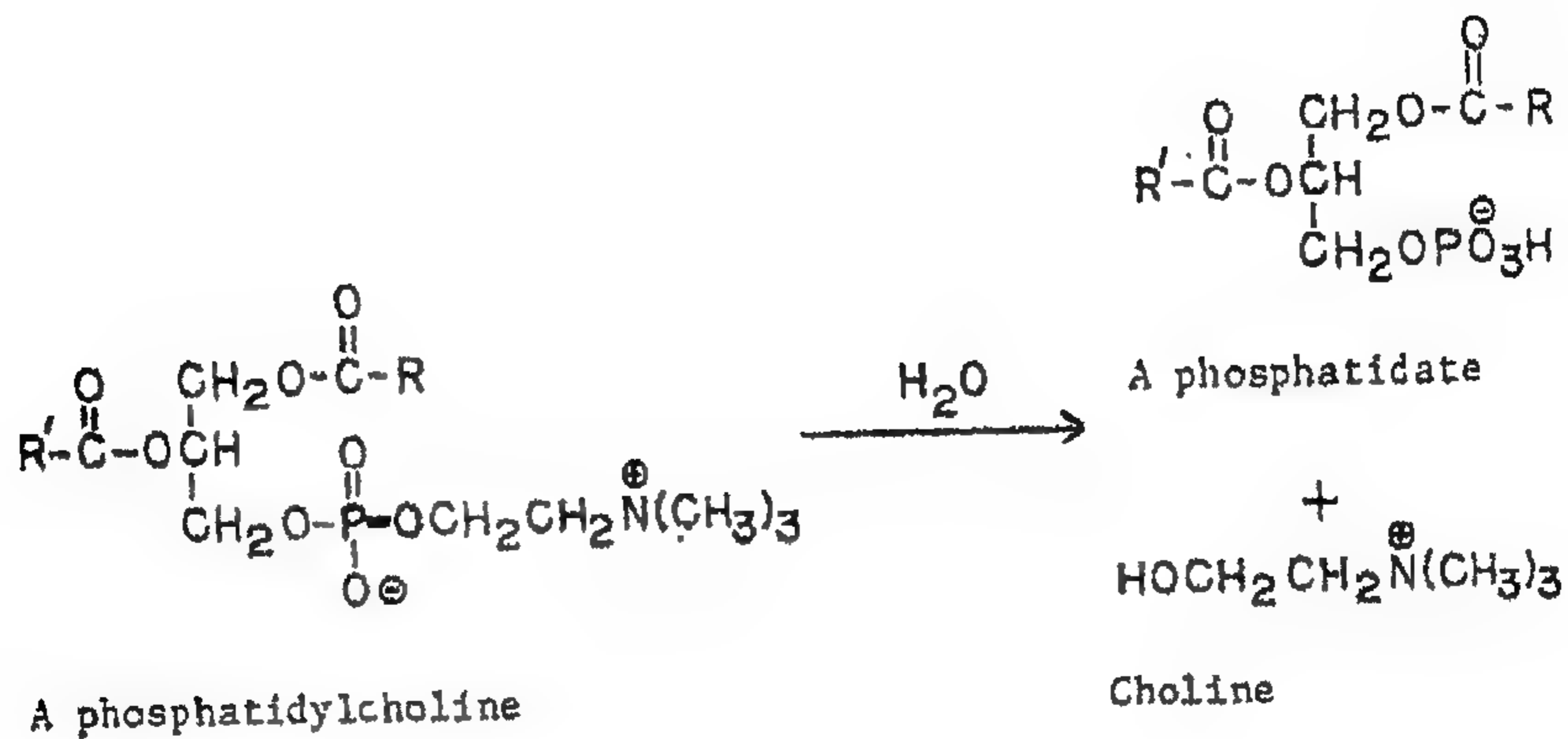
كما في المعادلة الآتية:



... (2- 46)

ويتضح من المعادلة تخصص الأنزيم الاستر المتكونة بين مجموعة الفسففات ومجموعة الهيدروكسيل للكسيرول.

يحفز الأنزيم D phospholipase التحلل المائي لمركب اللستين أيضاً (معادلة 2-47)، إلا أنه يعمل على أصرة الاستر الناتجة من مجموعة الفسففات من جهة ومجموعة الهيدروكسيل لثمالة الكلولين Choline residue من جهة أخرى، ولا يستطيع أي من الأنزيمين أن يقوم بالفعالية التحفيزية للآخر.



... (2-47)

2-8-5-3 أنزيم التحلل المائي لثلاثي أستر الفسفات

Triphosphoric monoester hydrolases Ec. 3.1.5

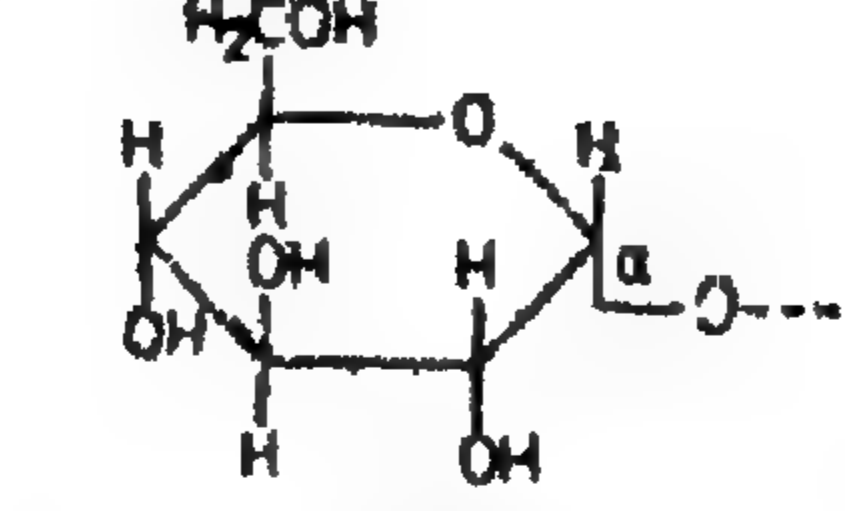
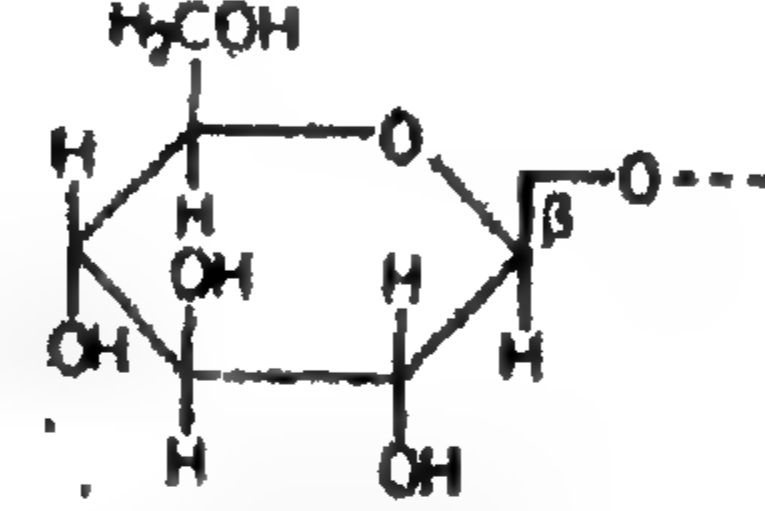
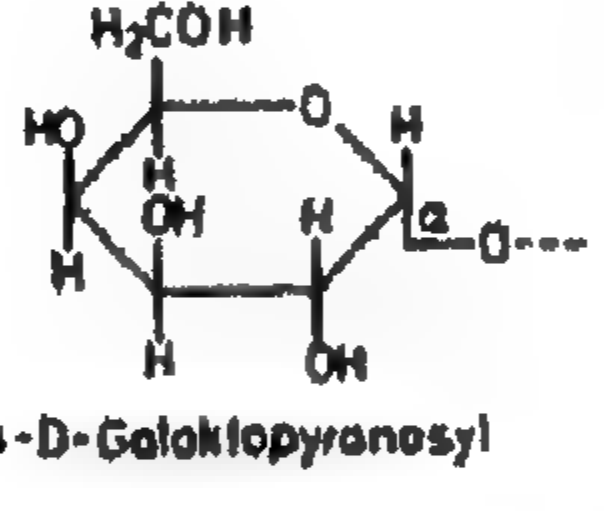
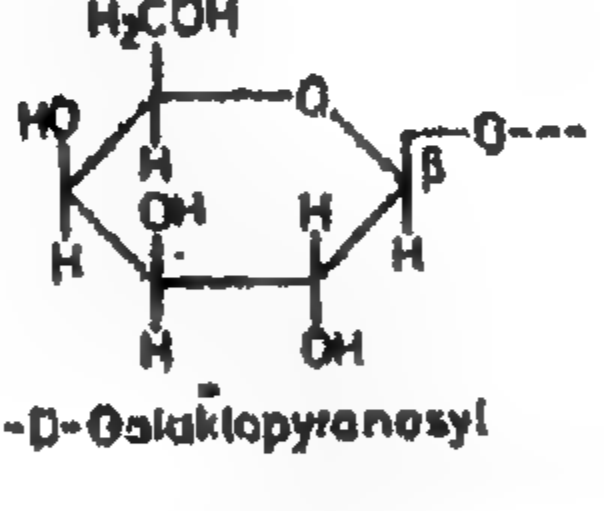
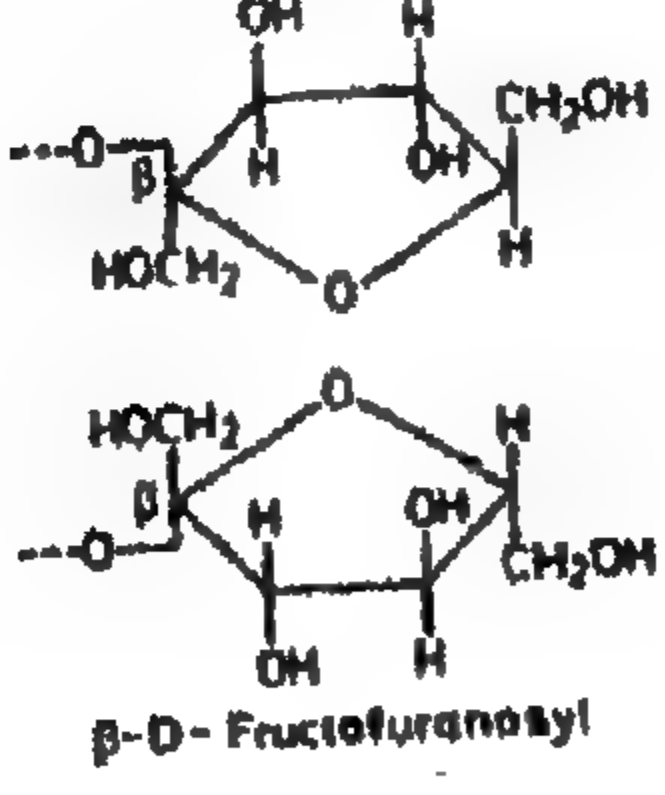
يحفز الأنزيم (Deoxy-GTp nucleotidohydrolase d GTPase) التحلل المائي للمركب dGTP (وأيضاً GTP) مؤدياً إلى تكوين ديوكسي الكوانوسين وثلثي الفسفات (معادلة 2-48).



2-8-6 أنزيمات الكلايكوسيداز Glycosidases والكلايكاناز Glycanases

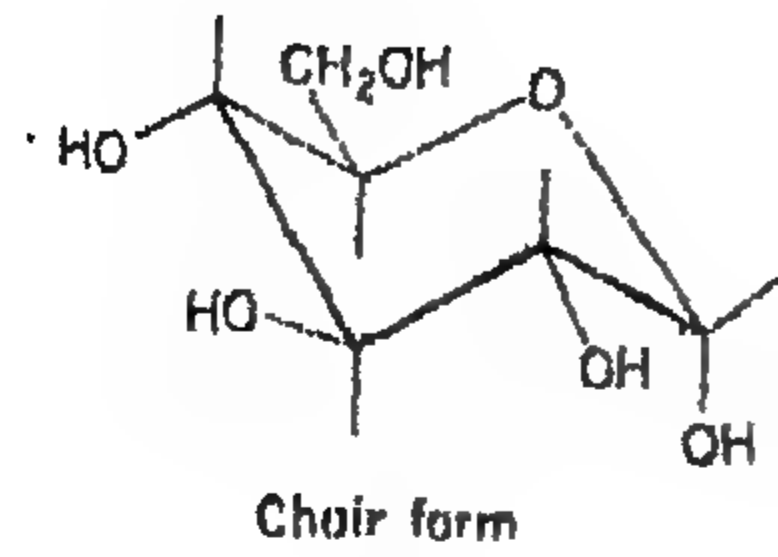
تحفز هذه الأنزيمات تفاعلات التحلل المائي لقليلات السكريد oligosaccharides والكلايكوسيدات Glycosides وعديدات السكريد وتقسم نسبة إلى خصوصيتها كما في الجدول (2-13).

جدول (2-13) تصنيف وتخصيص أنزيمات الكلايكوسيداز والكلايكاناز

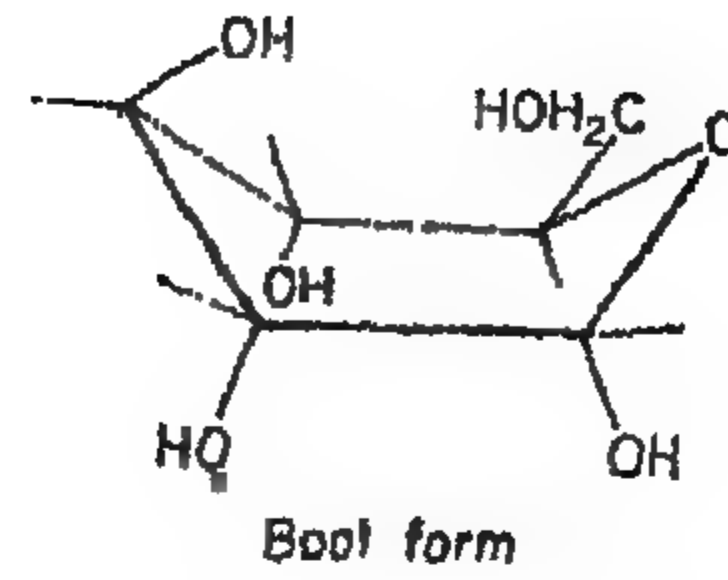
أمثلة للركائز	التخصص للأصرة	رقم الشفرة النظامي	لأنزيم
(A)			
مالتوز، سكروز Maltose, sucrose	 α -D-Glucopyranosyl	3.2.1.20	Glucosidases α -D-Glucosidase
سالسين، جينتيوبيوز، سيلوبيوز Salicin, Gentiobiose, Cellobiose	 β -D-Glucopyranosyl	3.2.1.21	β -D-Glucosidase
رافنوز، ميليبوز Melibiose, Raffinose	 α -D-Galactopyranosyl	3.2.1.22	α -D-Galactosidase
لاكتوز Lactose	 β -D-Galactopyranosyl	3.2.1.23	β -D-Galactosidase
رافنوز، سكروز Sucrose, Raffinose	 β -D-Fructofuranosyl	3.2.1.26	β -D-Fructofuranosidase
Starch, Glycogen	يحلل مائياً الأواصر الكلايكوسيدية ألفا 1 \leftarrow 4 في عديدات السكر الحوية على 3 أو أكثر	3.2.1.1	(β) Glycanases α -Amylase

أمثلة للركائز	التخصص للأصرة	رقم الشفرة النظامي	لأنزيم
Starch, Glycogen	من أواصر ألفا ← 4 لوحدات دي كلوكوز يحلل مائياً أواصر الكلايكوسيدية ألفا 1 ← 4 لعديدات السكريد بحيث يزيل وحدات مالتوز متعاقبة من الجهة غير المختزلة السلسلة	3.2.1.2	β -Amla- se
starch ، Glycogen	كما في β -Amylase إلا أنه يزيل وحدات كلوكوز	3.2.1.3	Glucoamylase
Inulin	يحلل مائياً أواصر الفركتان بيتا 1 ← 2	3.2.1.7	Inulase
Cellulose	الأواصر بيتا 1 ← 4 كلوكان	3.2.1.4	Cellulase
Pectate, other Polygalacturon- ides	يحلل مائياً الأواصر- α - 1.4 D- Galacturonide	3.2.1.15	Polygactu- ronidase

تعتمد خصوصية الأنزيم glycosidases بصورة عامة على حجم حلقة الكلايكون Glycone والتوزيع الفراغي للهيدروكسيل الكلايكوسيدي Glycosidic hydroxyl وأما الاختلافات الأخرى خارج الحلقة وكمثال وجود أو عدم وجود ذرة الكربون رقم 6 وطبيعة الاكلايكون Aglycone. كأن يكون كحول أوفينول - فأنها تؤثر في سرعة تكسر الاصرة الكلايكوسيدية ولكن لا تؤثر في التخصص الأنزيمي. وعلى سبيل المثال، يمكن أن توجد أحاديات السكريد الخماسية أو السداسية. بشكل الكرسي chair أو Boot كما في الشكل (2-36).



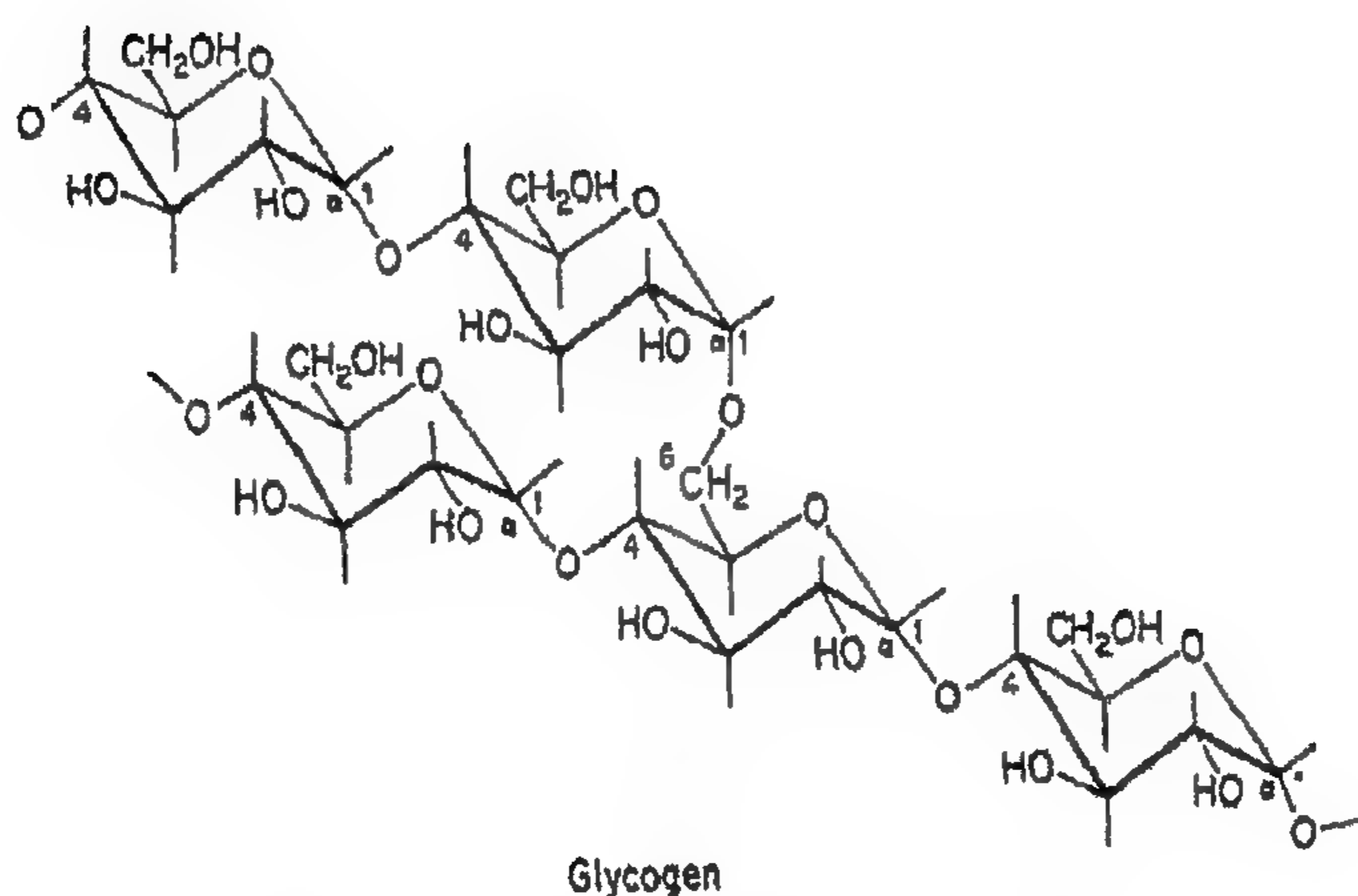
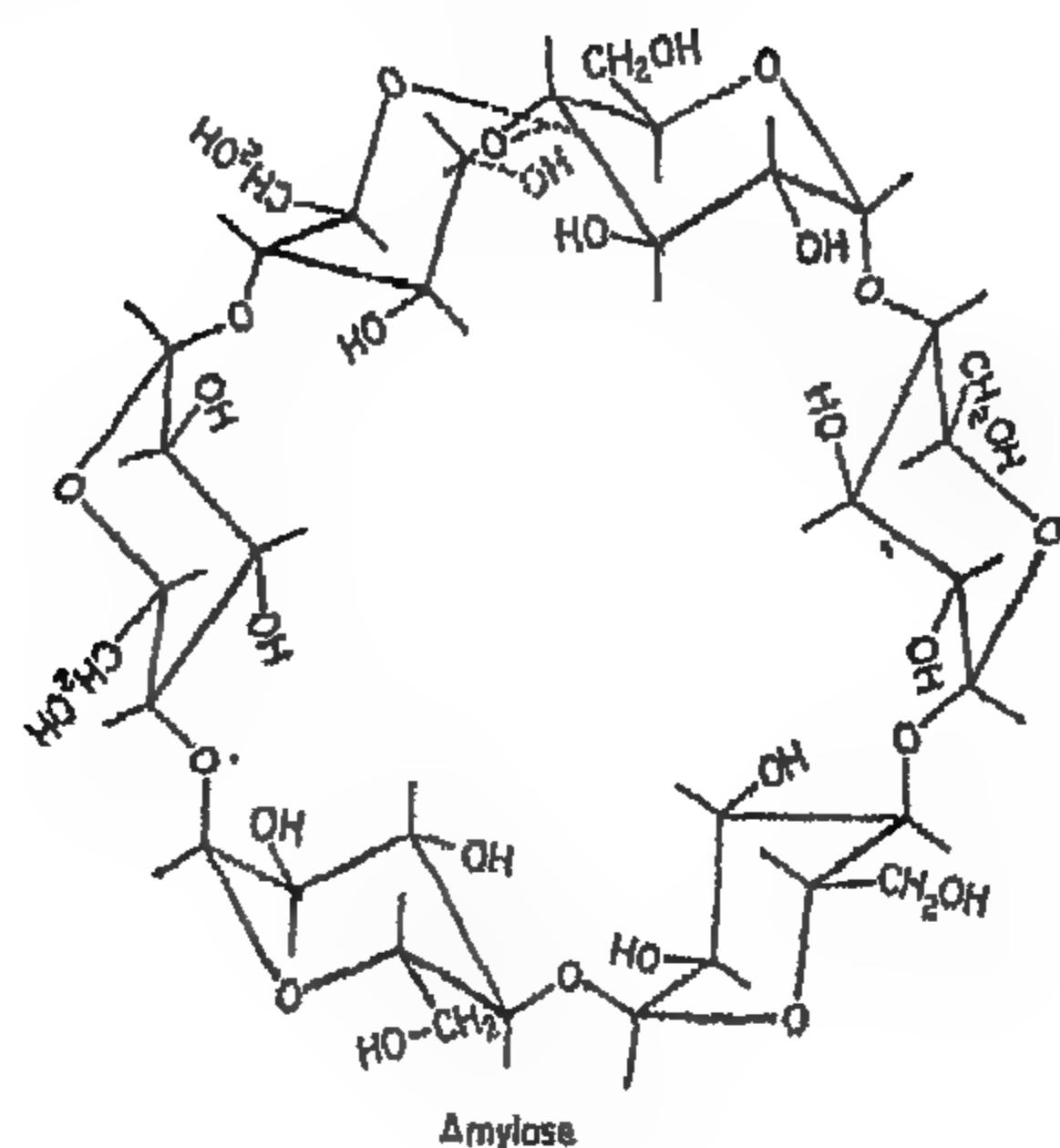
هيئة الكرسي



هيئة الزورق

شكل (2- 36) هيئة الكرسي والزورق للمركب $\alpha - D - Glucose$

أما في الكلايكوسيدات (الكلايكوسيد مركب ينتج عن معاملة أحادي السكر مع الكحول في محيط حامضي) فإن هيئة الكرسي تمثل الصيغة التي توجد فيها هذه المركبات في الطبيعة ويظهر بأن أنزيمات الكلايكوسيداز متخصصة لهيئة الكرسي. كما أن لحجم جزيئة الركيزة دور مهم في عمل الأنزيم فتجد مثلاً الأنزيمات α - Amylases و β - Amylases و 1.6-glucosides - Amylopectin فعالة مع الجزيئات الكبيرة مثل النشا والكلايكوجين ولكنها ضعيفة الفعالية مع المالتوز والايضمالتوز Esomaltose. يكون أنزيم السليولاز Cellulase فعالاً مع السليولوز ولكنه غير فعال تجاه السلوبيوز Cellobiose ويمثل الشكل (2-37) طبيعة هذه الجزيئات البوليمرية. كما أن النشا والكلايوجين أو السليولوز لا يتحلل مائياً بالأنزيمات Maltase أو Cellobiase على التوالي ولتفسير هذه الظاهرة افترض بأن الحجم الكبير لهذه الجزيئات لا يسمح بإرتباطها في الموقع النشط للأنزيم Maltase أو Cellubias و أما المالتوز والسلوبيوز فإنها تعمل بمثابة مثبطات تنافسية لأنزيم الإميلاز والسليولاز على التوالي لأسباب واضحة.

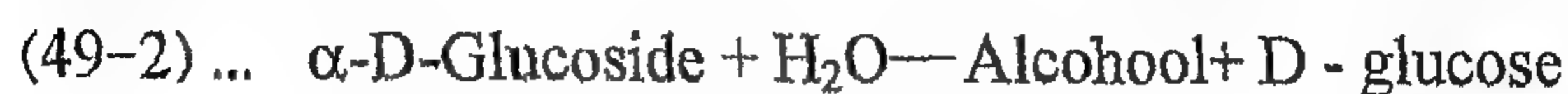


شكل (2- 37) تركيب الأميلوز و الكلايكوجين والسيليلوز. الأميلوز بوليمر على شكل حلزون وتحتوي اللفة الواحدة على حوالي ست وحدات كلوكوز. السيليلوز سلسلة مستقيمة تجعل بالإمكان تكويني أواصر هيدروجينية بين السلاسل المتجاورة.

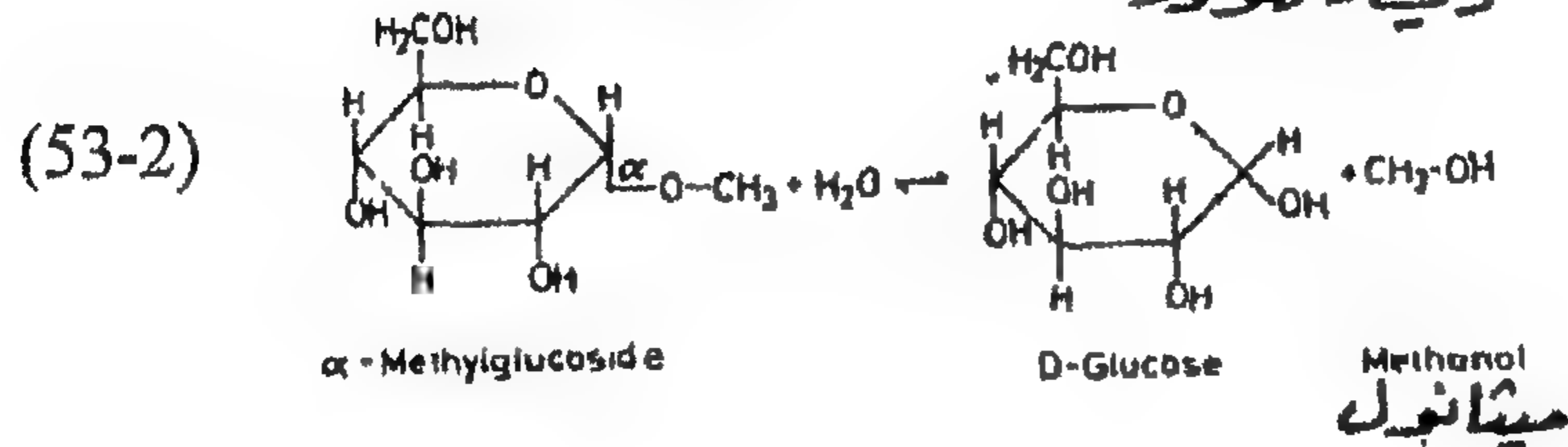
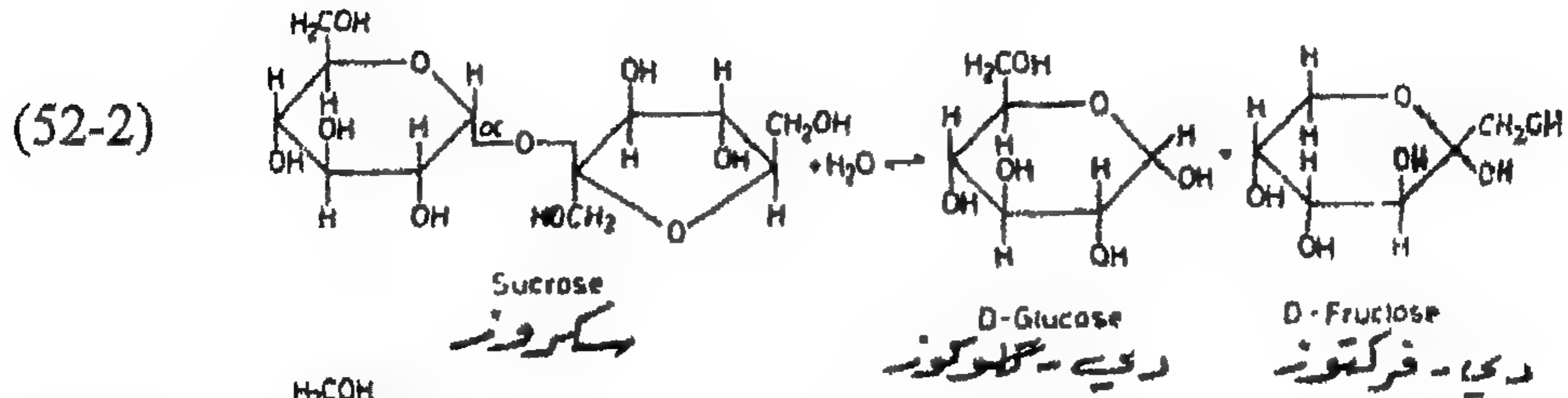
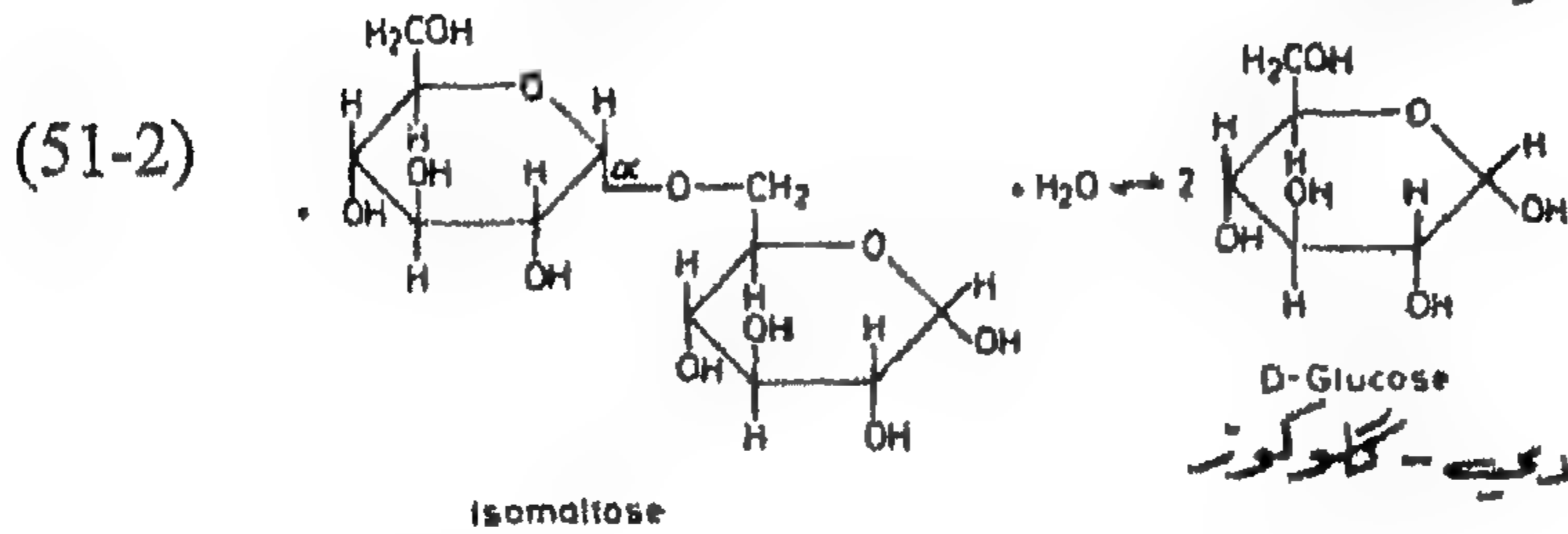
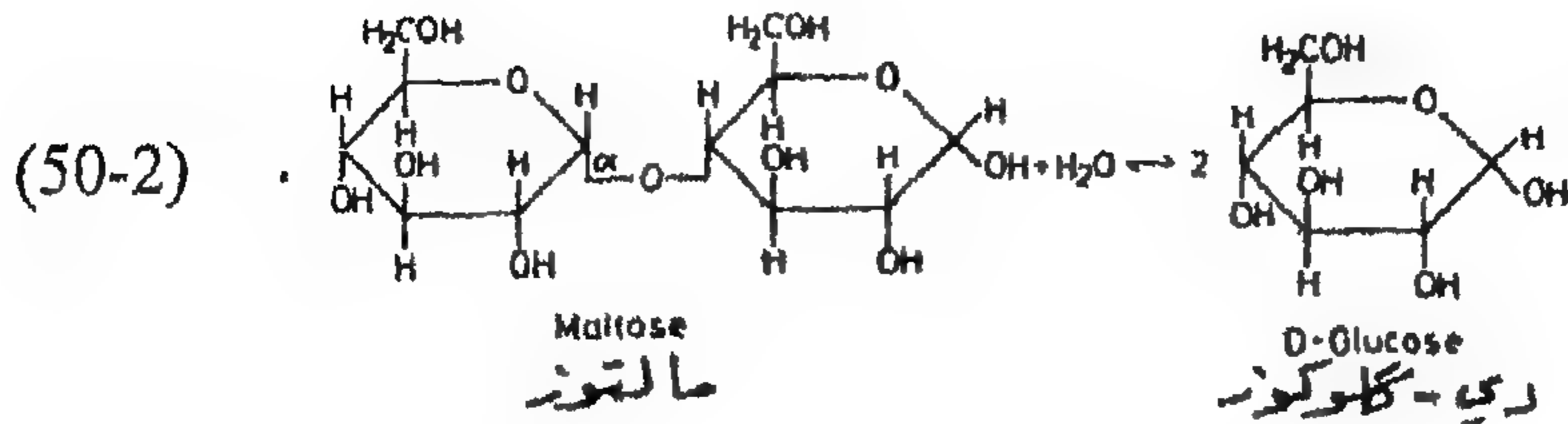
1-6-8-2

α -D-Glucosidase (α -D-Glucoside glucohydrolase, EC.32.1. 20

يحفز الأنزيم التحلل المائي للمركبات α -D -Glucosides كالآتي:



ويعمل على عدد من الركائز الطبيعية وغير الطبيعية ومنها Maltose و Isomaltase و Sucrose و α -Methylglucoside كما في المعادلات الآتية:



وينتشر الأنزيم بصورة واسعة في الحيوانات والنباتات الراقية وفي الأحياء المجهرية. يوجد في الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* نوعان من أنزيم α -Glucosidase الأول Maltase ويحلل مائياً المالتوز والسكروروز ولكنه لا يحلل Isomaltose أو α -Methylglucoside وأما الأنزيم الثاني α -Methylglucosidase فيحفز التحلل المائي للمركب α -Methylglucoside و

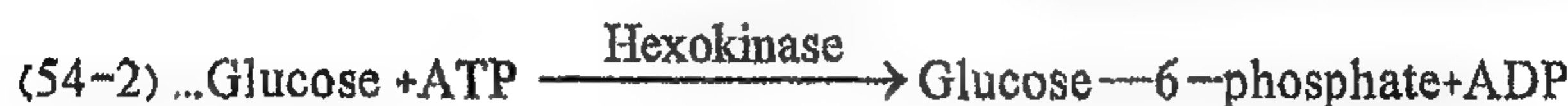
Isomaltose و Sucrose ولكنه غير فعال تجاه المالتوز. يوضح الجدول (2-14) السرعة النسبية للتفاعل بوجود الركائز المختلفة.

جدول (2-14) السرعة النسبية للتفاعلات المحفزة بأنزيم الـ Maltase و α -Methyl Glucosidase بوجود الركائز المختلفة

الركيزة	الأنزيم
	α -Methylglucosidase
	Maltase
Maltse	1.00
Sucrose	0.67
α -Methylucoside	0.73
Isomaltose	1.00
	1.40

قياس فعالية الأنزيم الفا-كلوكوسيداز α -Glucosidase

يستحسن استخدام المالتوز بمثابة ركيزة عند تعيين نشاط الأنزيم Maltase ثم قياس الكلوكوز الناتج بطريقة أنزيمية وكمثال باستخدام ATP/Hexokinase و Glucose-6-NADP^+ phosphate dehydrogenase إذ يتحول الكلوكوز يتحفيز أنزيم الهيكسوكيناز Hexokinase إلى $\text{Glucose-6-phosphate}$ ثم يتفاعل الأخير مع NADP^+ بوجود الأنزيم $\text{Glucose-6-phosphate dehydrogenase}$ (G₆PDH) :

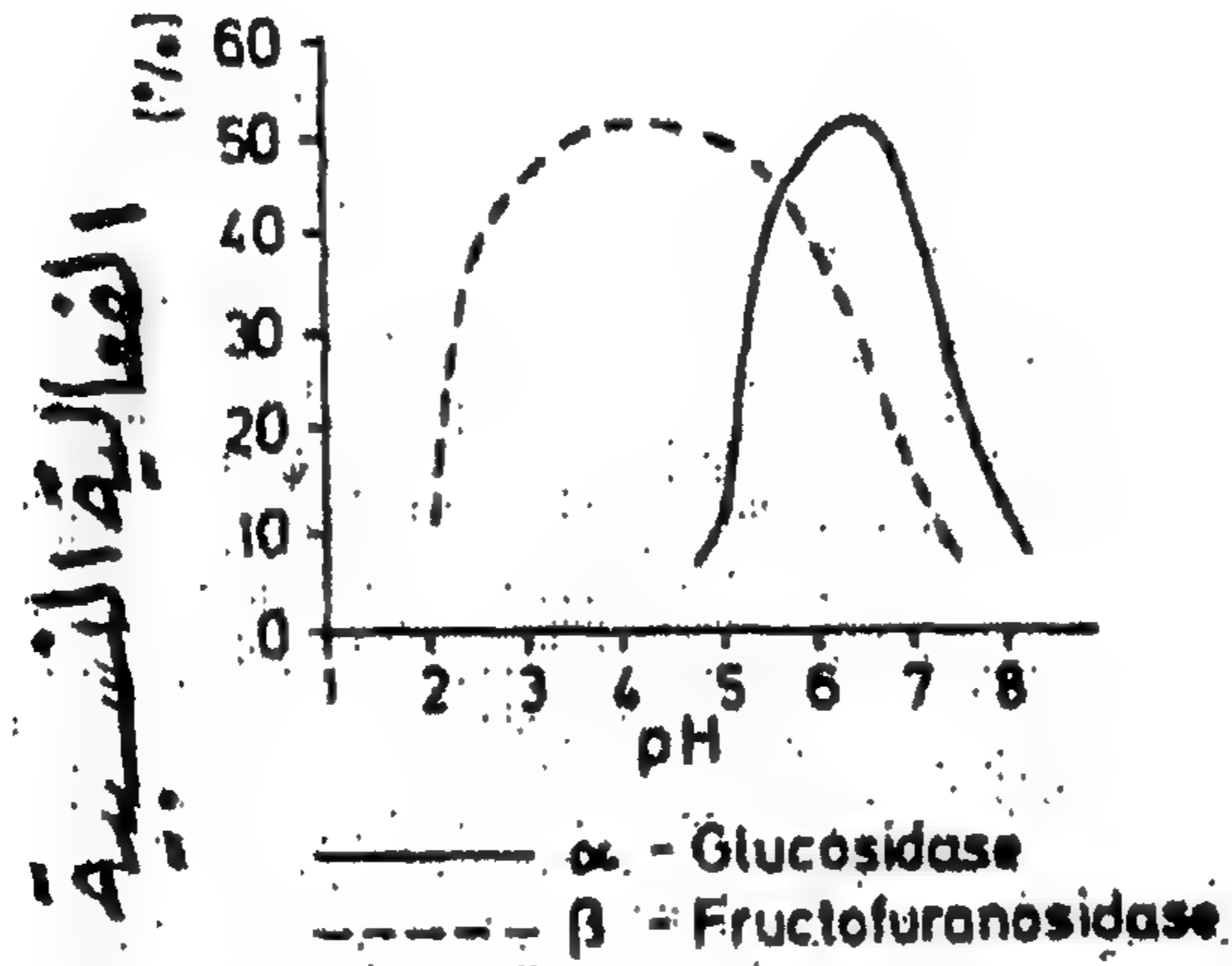


يلاحظ من المعادلتين أعلاه تكوين جزيئة NADPH لكل جزيئة كلوكوز ويمكن قياس تركيز المركب NADPH الناتج باستخدام المطياف

وقياس الكثافة البصرية عند الطول الموجي 340 نانومتر إذ توازي الزيادة في تركيز NADPH (زيادة الإمتصاص)، النشاط الأنزيمي.

يمكن استخدام p-Nitro phenyl α -D-glucopyranoside بمثابة ركيزة للأنزيم α -Glucosidase ويتكون نتيجة للتفاعل، المركب P-Nitro phenol ذو اللون الأصفر في المحيط القاعدي (نتيجة لتكوين الأيون p-Nitrophenolate).

الرقم الهيدروجيني الأمثل للأنزيم α -Glucosidase من الخميرة يقع في حدود 7.0 (شكل 2-38).



شكل (2-38) العلاقة بين الفعالية الانزيمية والرقم الهيدروجيني (-) الانزيم

α -D-Glucose (....) الانزيم β -Fructofuranosidase

أهمية الأنزيم-Glucosidase

يلعب الأنزيم Maltase الموجود في الخميرة، دورا كبيرا في مراحل التخمر إذ يؤدي تحول المالتوز -الناتج عن تحلل النشا بفعل أنزيمات الاميلاز- إلى الكلوكوز ويتحول الأخير بواسطة مجموعة من الأنزيمات موجودة عادة في الخميرة إلى CO_2 وإيثانول.

β-D-Glucoside glucohydrolase.EC3.2.1.21 2-6-8-2

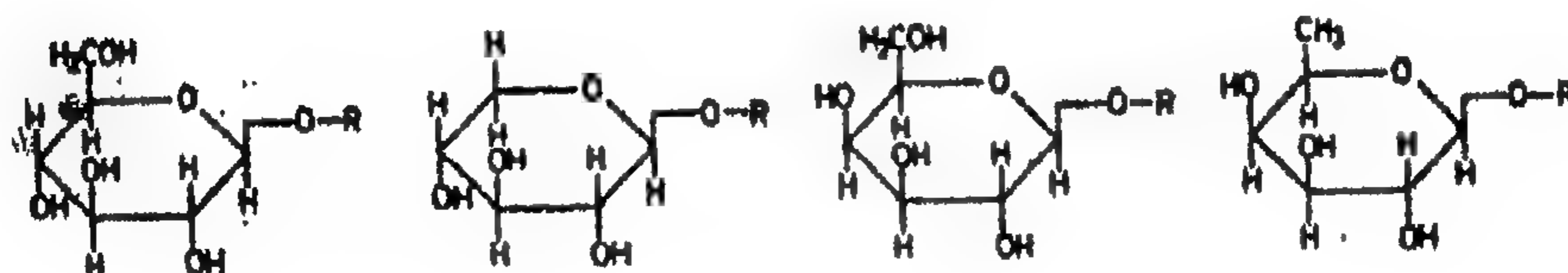
يحفز التحلل المائي للمركبات β-D- Glucosides



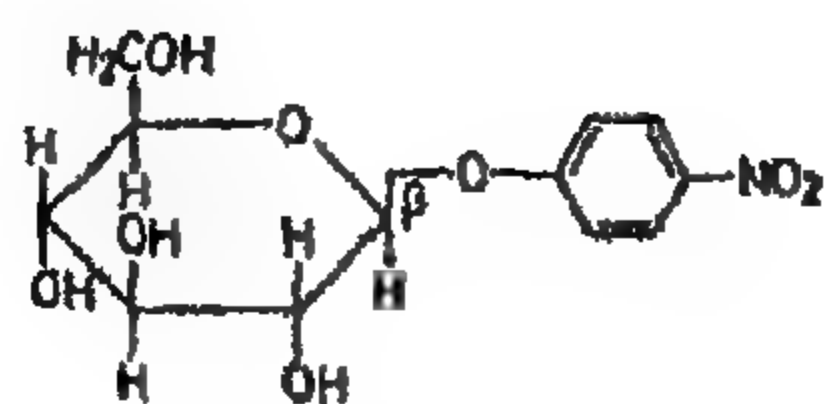
ويوجد في النباتات أو الحيوانات الراقية والاحياء المجهرية هناك نوعان من الأنزيم β - Glucoside يختلفان في تخصصهما للركيزة .

الأول Aryl-β-Giucosidase ويوجد في اللوز والثاني β-1.4-Glucodimerase ويحلل الأواصر الكلايكوسيدية من نوع بيتا كالتى تربط بين ثملات الكلوكوز في مركب السليلوز، وسوف نتناول هنا النوع الاول فقط .

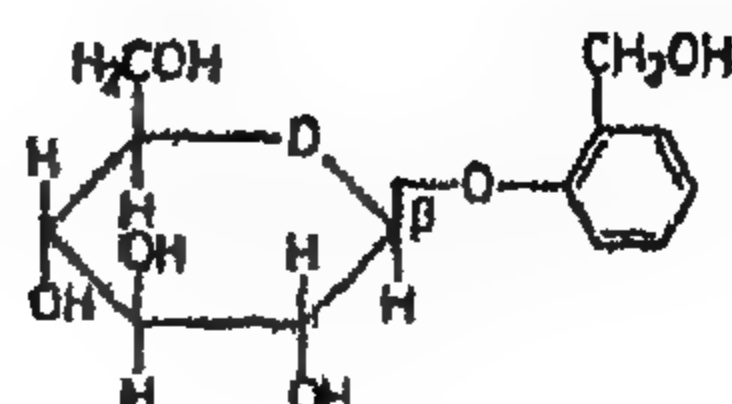
تعمل الأنزيمات Aryl-β- Giucosidase على الركائز من نوع Aryl- glucosides بصورة رئيسية كما أنها تعمل أيضا على الركائز Alkyl- glucosides ولكنها تفضل الاول على الثانية . ويظهر بأن الأنزيم الموجود في اللوز مسؤول كليا عن التحلل المائي للمركبات β-D-Fucosides و β-D-Galactosides أما β-D- Glucosides



خلاصة الشعير المنبت Malt فإنها تحوي على نشاط أنزيمين مختلفين تماما وهما β-Glucosidase و β-Galactosidase يتراوح الرقم الهيدروجيني الأمثل للأنزيم β-Galactosidase بين 4 و 6 تبعاً لمصدر الأنزيم بصفة خاصة بركبات اللاكتون وكمثال Glucono-1.5-lactone و Glucono-1.4-lactone وحامض الاسكوريك L-Ascorbic . يتم الكشف عن نشاط الأنزيمات Aryl-β- Giucosidase باستخدام O(orp) Nitrophenyl-β-D- glucosides أو Salicin بمثابة ركائز .



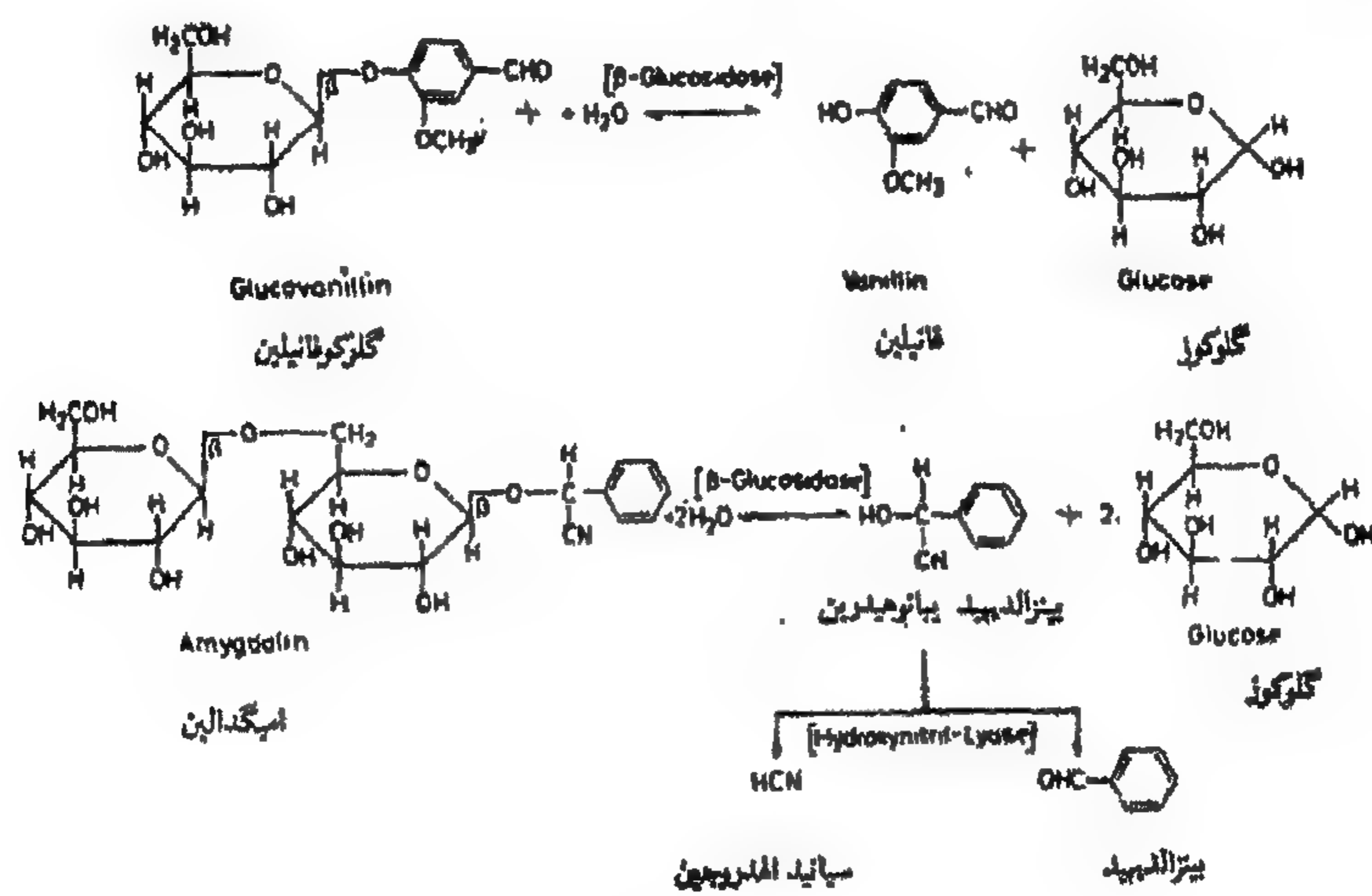
P-Nitrophenyl- β -D-glucopyranoside



Salicin

وفي كاتنا الحالتين يمكن تعيين الكلوكوز المتحرر باستخدام اقتران أنزيمي Hexokin-ase/ATP و NADP^+ glucose-6-phosphate dehydrogenase وكما ذكر لأنزيم α -Glucosidase .

يلعب الأنزيم Aryl- β -Glucosidase دورا مهما في التصنيع الغذائي إذ يحرر مواد ذات نكهة خاصة مثل الفانيلين Vanillin والاميكدالين Amygdalin كما في المعادلتين الاتيتين .

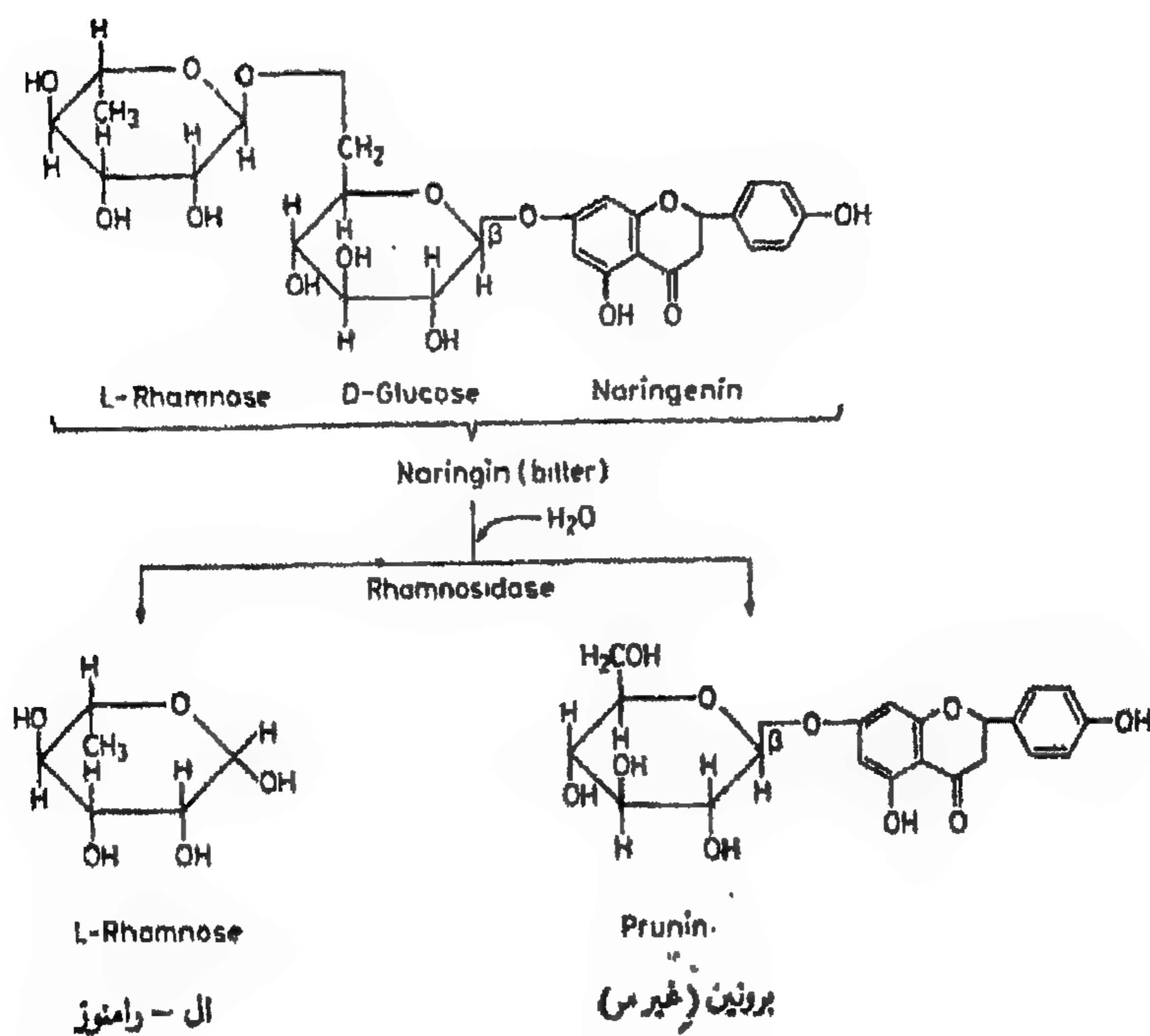


... (2- 58)

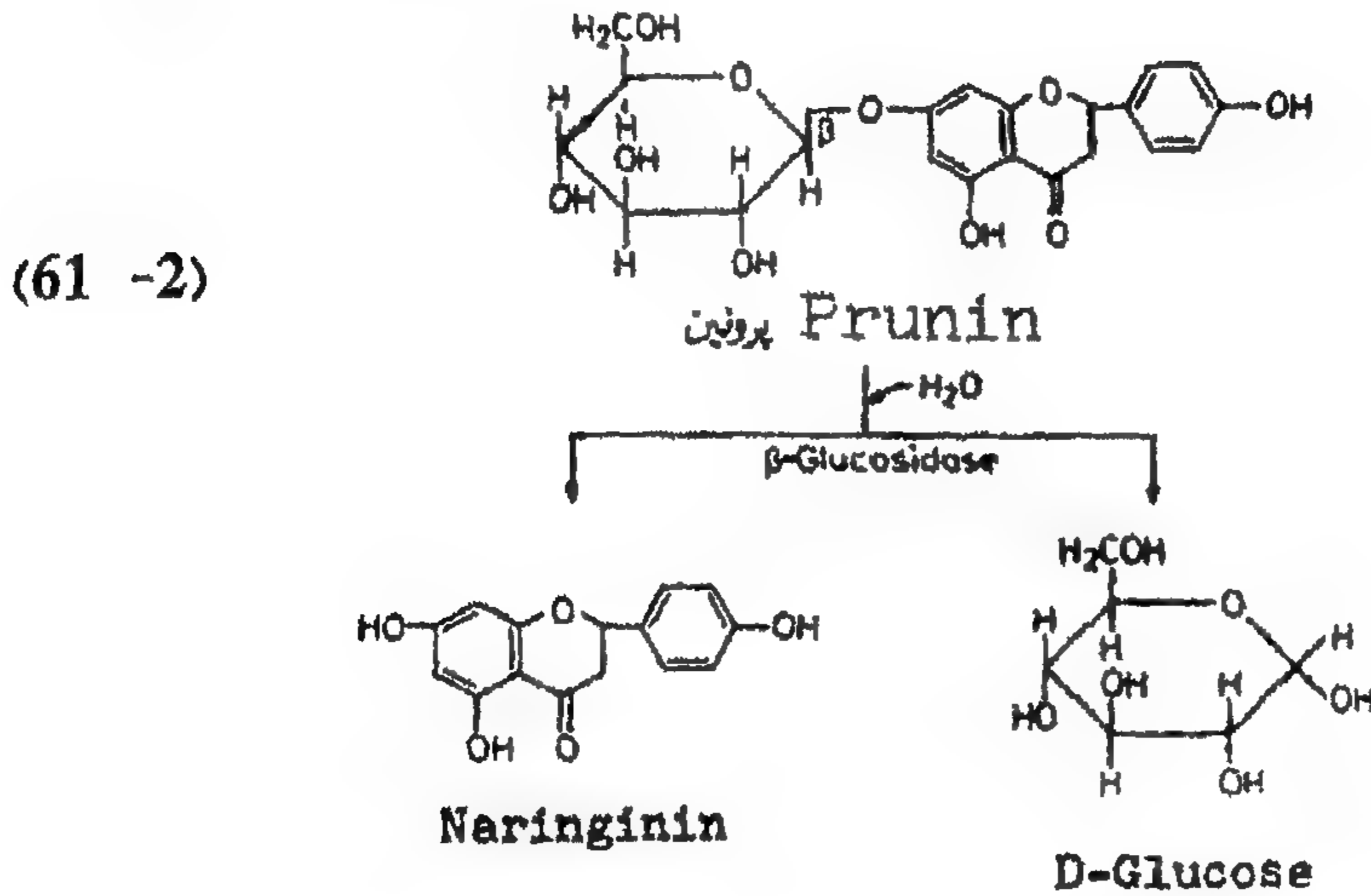
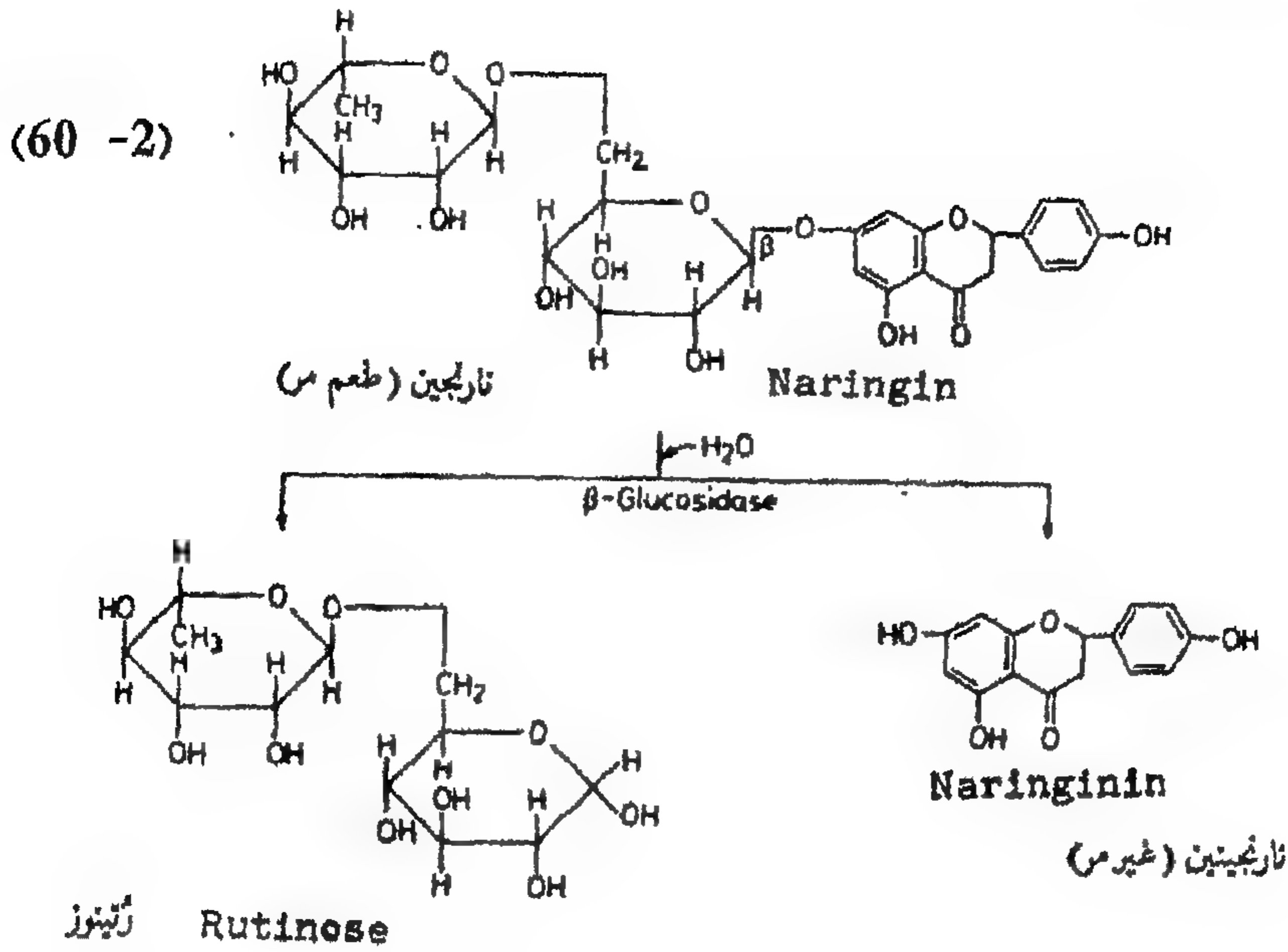
ومن الجدير بالذكر أن مصدر المرارة في اللوز هو المركب اميكدالين. ومن ناحية أخرى، يمكن إزالة الطعم المر في عصير الحمضيات بواسطة الأنزيمات Rhamanosidases و β -Glucosidase إذ أن مصدر المرارة مركب النارينجين Naringin وتزول المرارة عند تحلله المائي بأحد هذين الأنزيمات. ينتج

عن التحلل المائي للنارنجين بأنزيم Rhamnosidase مزيج من L- Rhamnose و Prunin والمركب الأخير غير مر.

أما التحلل المائي للنارنجين بأنزيم β - Glucosidase فينتج عنه Rham-6-
Naringenin و nosido -Glucose (غير مر) كما يحلل الأنزيم ذاته المركب
Prunin إلى كلوكوز و Naringenin غير المركب في المعادلات الآتية:



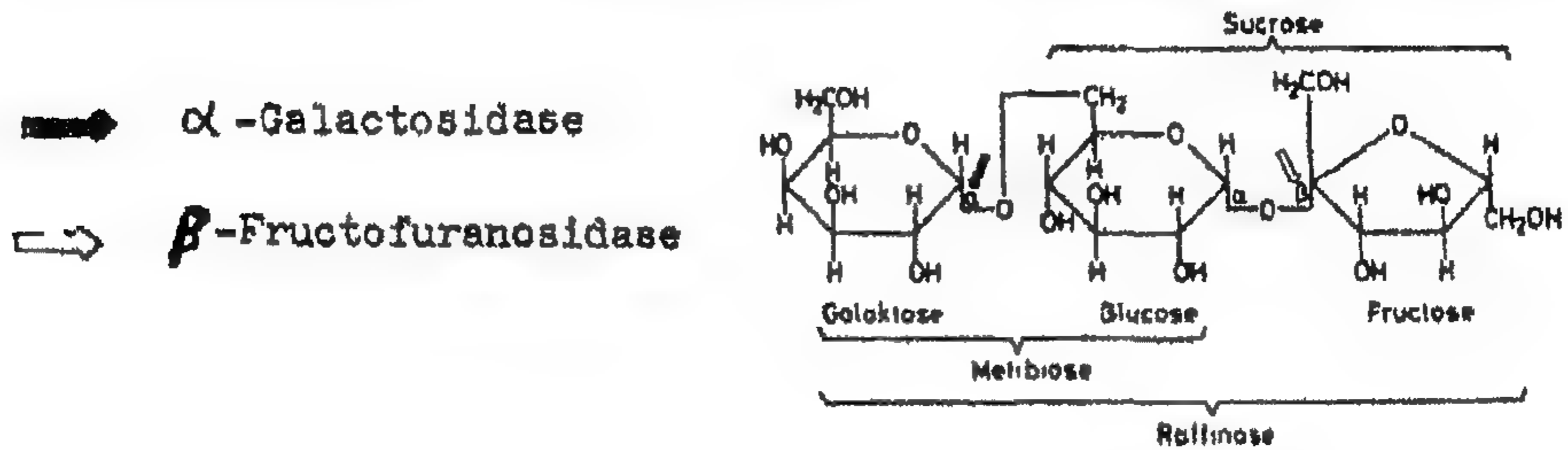
... (2- 59)



يسمى الأنزيمان β -Glucosidase و L-Rhamnosidase سوية باسم Naringinase ويمكن الحصول على الـ Naringinase صناعيا من العفن.

α -D-Galactoside galactohydrolase, Ec 3.2.122 3-6-8-2

يعمل هذا الأنزيم بتخصص واسع نسبياً، فمثلاً يحلل مائياً كلاً من كلاً من الميثانول وكلاً من كلاً من الفينول وكلاً من كلاً من المركب P-Nitrophenol وثلاثيات السكر مثل ميليبايوز وثلاثيات السكر مثل الرافنوز Raffinose وقليلات السكر وعديدات السكر الحاوية على α -Galactoside ويوضح الشكل (2-39) موقع مهاجمة الأنزيم α -Galactosidase للمركب رافنوز.



شكل (2-39) موقع مهاجمة الأنزيم α -Galactosidase والآنزيم β -Fructofuranosidase للمركب رافنوز.

يلعب تحليل وتخمر سكر الرافنوز دوراً كبيراً في تكنولوجيا الإختمار للتمييز بين الخمائر التي تنمو في الأسفل Bottom fermenting yeast والتي تنمو في الأعلى Top fermenting yeast. تظهر جميع أجناس الخميرة S.cervisiae التي تمثل النوع الأول fermenting yeast Bottom، نشاط الأنزيم α -Galactosidase إضافة إلى الأنزيم β -fructofuranosidase وبذلك تستطيع فلق سكر الفركتوز والكلوكوز من ثلاثي السكر رافنوز وكلاً من السكرين قابل للإختمار أما الكالتكوز الناتج فإنه غير قابل للإختمار هنا وبذلك يتخمر ثلثا سكر الرافنوز في الخمائر التي تنمو في الأسفل.

أما الخمائر التي تنمو في الأعلى فإنها تمتلك فقط الأنزيم β -Fructofuranosidase الذي يحلل الرافنوز مائياً إلى فركتوز وميليبايوز Melibiose (شكل 2-39) وبذلك تخمر ثلث السكر فقط.

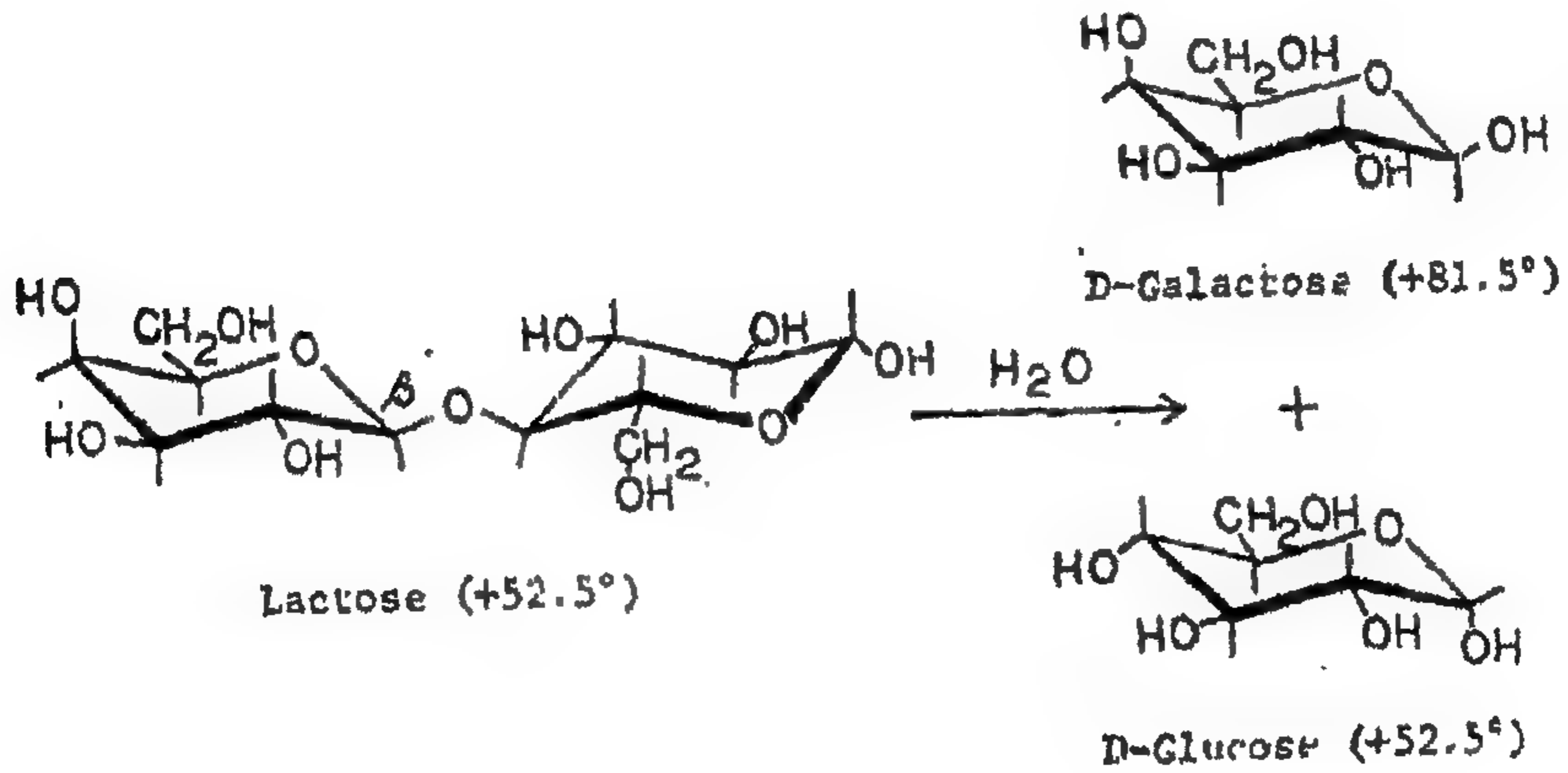
β -D- Galactoside galacto hydrolase, Ec 3.2.1.23)4-6-8-2

يمثل سكر اللاكتوز الركيزة الطبيعية للأنزيم β -Galactosidase والذي يسمى أيضاً Lactase إذ يحلل اللاكتوز إلى كلوكوز وكالكتوز. لهذا الأنزيم أهمية كبيرة لكيميائي الأغذية لأن ناتجاً التحلل أكثر حلاوة من اللاكتوز. كما أن لاللاكتوز قابلية ذوبان محدودة

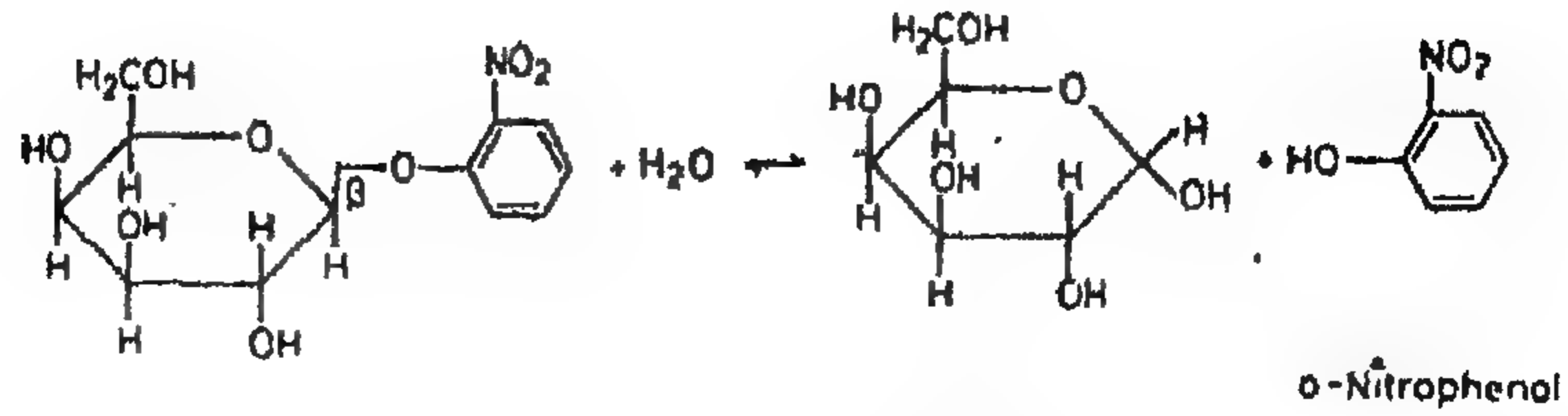
ولهذا يترسب من منتجات الألبان المجمدة ويكسبها قواماً رملياً إلا أن تحلله الجزئي إلى كلوكوز وكالكتوز يمنع حصول هذه الظاهرة غير المرغوبة.

وتجدر الإشارة هنا إلى أن للشعوب الآسيوية حساسية للحليب لفقدان الأنزيم β -Galactosidase وبذلك لا يتمكن الشخص المصاب من أيض اللاكتوز.

هناك عدة طرق لتقدير النشاط الأنزيمي ومنها قياس التغير في الدوران النوعي Specific rotation من 52.5 إلى 67.0 نتيجة التحلل المائي للاكتوز:



يمثل المركب O- Nitro phenyl _ β _ galactopyranoside ركيزة صناعية Artificial للأنزيم وينتج عن فعله التحفيزي α -O-Nitrophenol و α -Galactose



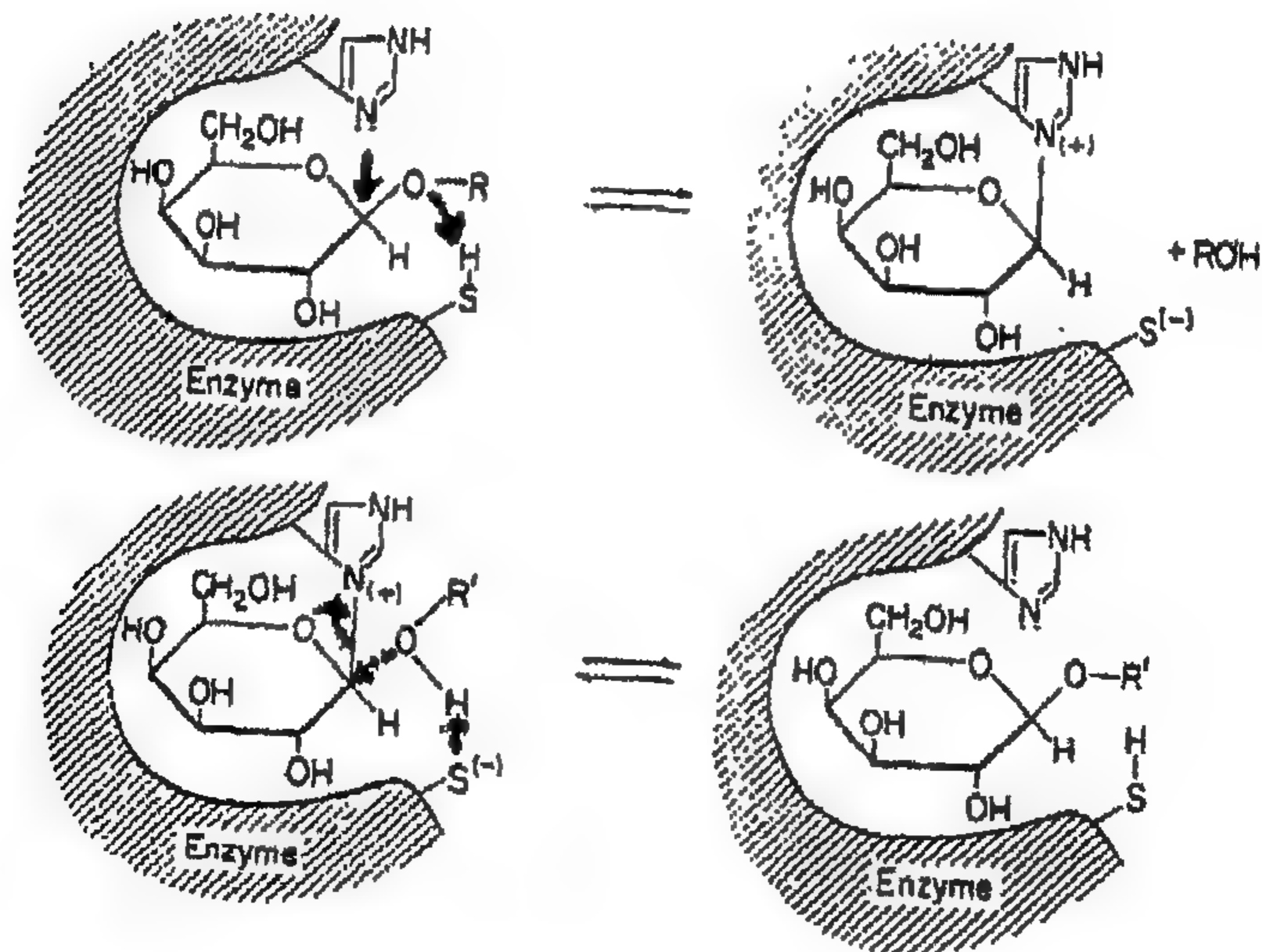
اورثو - نايتروفينول ، دي - غلاكتوز

اورثو - نايتروفينيل - بيتا - دي - كلاكتوبيرانوسيد

وبعد جعل المحلول قاعدي، يمكن تقدير اللون الأصفر للأيون O-Nitrophenolate باستخدام المطياف.

آلية عمله ؛

تتضح الآلية المقترحة لعمل الأنزيم في الشكل (2-40). يحتوي الأنزيم في الموقع النشط على الحامض الأميني هستدين والحامض cysteine.

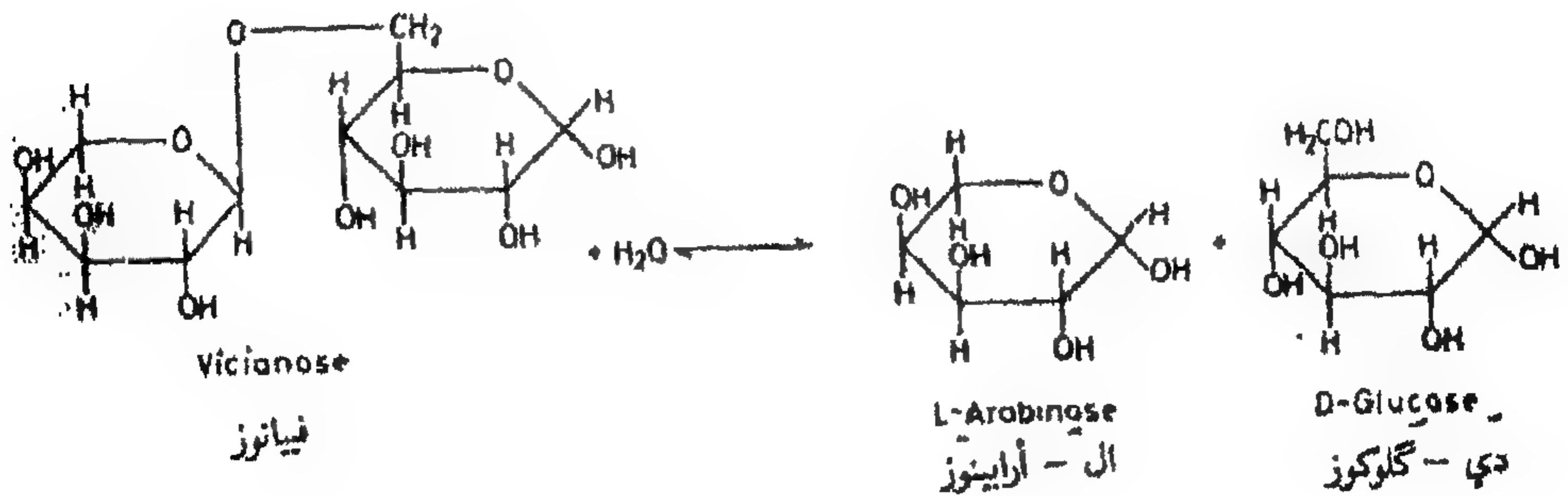


شكل (2-20) الآلية المقترحة للأنزيم β - Fructofuranosidase .

تعمل مجموعة الثايول (-SH) للسستين Cysteine بمثابة حامض إذ تهب بروتون إلى الأوكسجين الكلايكوسيدي فيما تعمل مجموعة الاميدازول كمجموعة محبة للنواة Nucleophilic لأنها تهاجم ذرة الكربون رقم (1) لجزء الكلايكون Glycone أي سكر الكالكينوز ويفترض تكون مركب وسطي يشتمل على آصرة تساهمية بين نتروجين حلقة الإמידازول وكربون رقم (1) لثمالة الكالكينوز.

ولتحرير الكالكينوز، يعمل الأيون السالب (S) بمثابة قاعدة فيأخذ بروتون من الماء تهاجم مجموعة الهيدروكسيل المتكونة كربون رقم (1)، وعندئذ يتحرر الكالكينوز، وكما يتضح من الشكل (2-40) لا يحصل أي تغيير في ترتيب المجاميع المرتبة بالكربون الانوميري Anomeric Carbon فالمركب الناتج يبقى بهيئة بيتا β -Galactose الوزن الجزيئي للأنزيم بسيتا كلوكوسيداز هو 700000 وتختلف عدد المواقع النشطة في الجزيئة تبعاً لدرجة الحرارة، ففي المدى 4-6 درجات مئوية يوجد 1.9 مواقع نشطة ويزداد العدد إلى 4.7 في المدى 20-22°م.

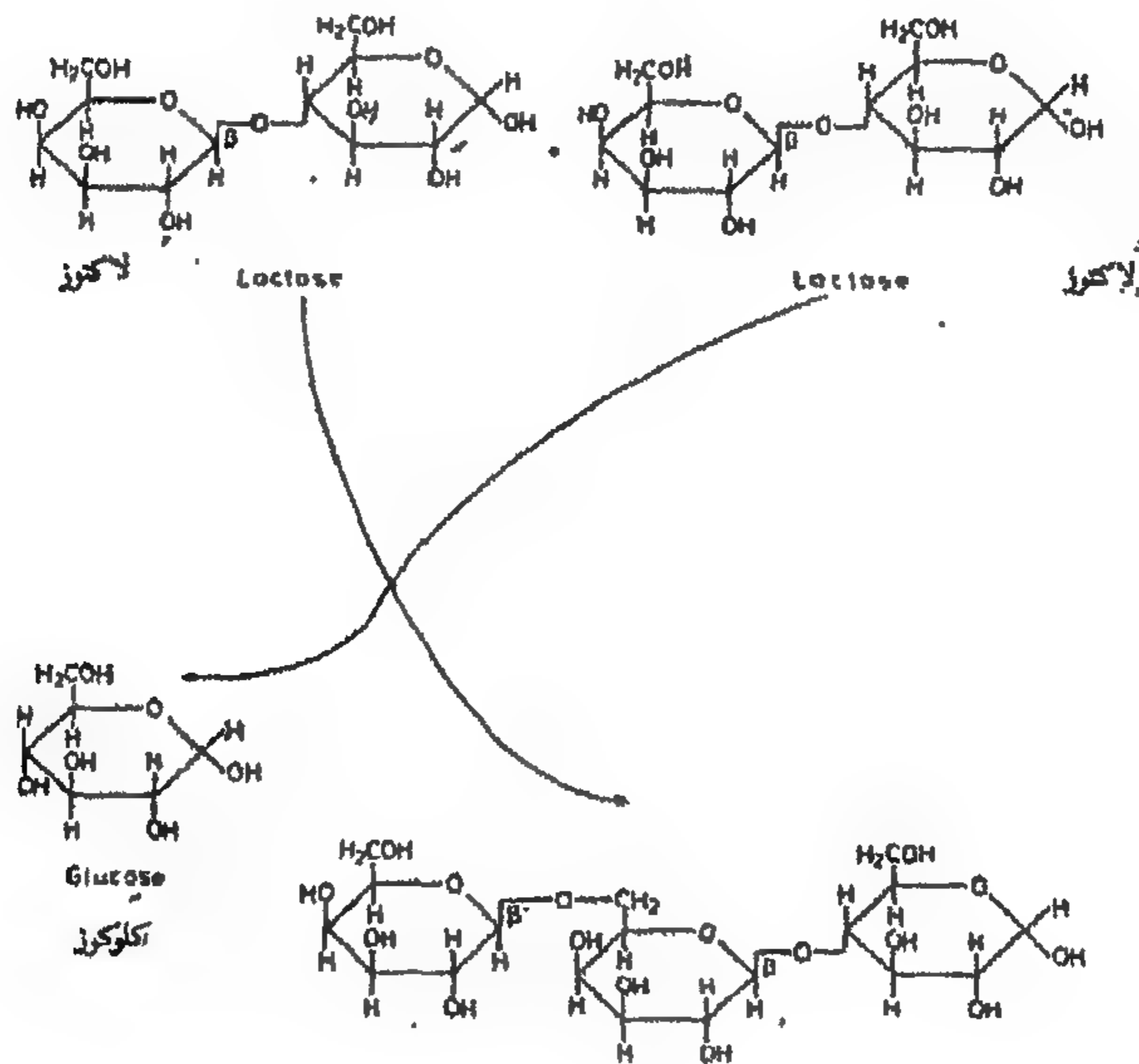
ويظهر بأن الجزيئة تتكون من عدة دون وحدات Sub units وربما خمسة منها. وفي السكريد يحتوي على ثمالة أرابينوز مرتبطة بثمالة كلوكوز بآصرة بيتا 1-6:



... (2-65)

يتضح من هذا بأن تخصص الأنزيم يعتمد على حجم حلقة السكر pyranose أو Furanose والترتيب الفراغي لمجموعة الهيدروكسيل الكلايكوسيدية (يجب أن تكون بيتا) إضافة إلى مجاميع الهيدروكسيل الأخرى في الحلقة بينما لا يؤثر وجود كربون رقم 6 (في الكالتكوز) أو عدمه (في الإرابنوز) في تخصص هذا الأنزيم.

يستطيع أنزيم β -Galactosidase كذلك أن يعمل على نقل ثمالة السكر المرتبطة بأصرة كلايكوسيدية إلى جزيئات أخرى حاوية على مجاميع هيدروكسيل فمثلا نقل ثمالة الكالتكوز من اللاكتوز إلى جزيئة لاكتوز أخرى وبذلك يتكون سكر ثلاثي جديد كما في المعادلة الآتية:



٦ - كالتكوز - لاكتوز

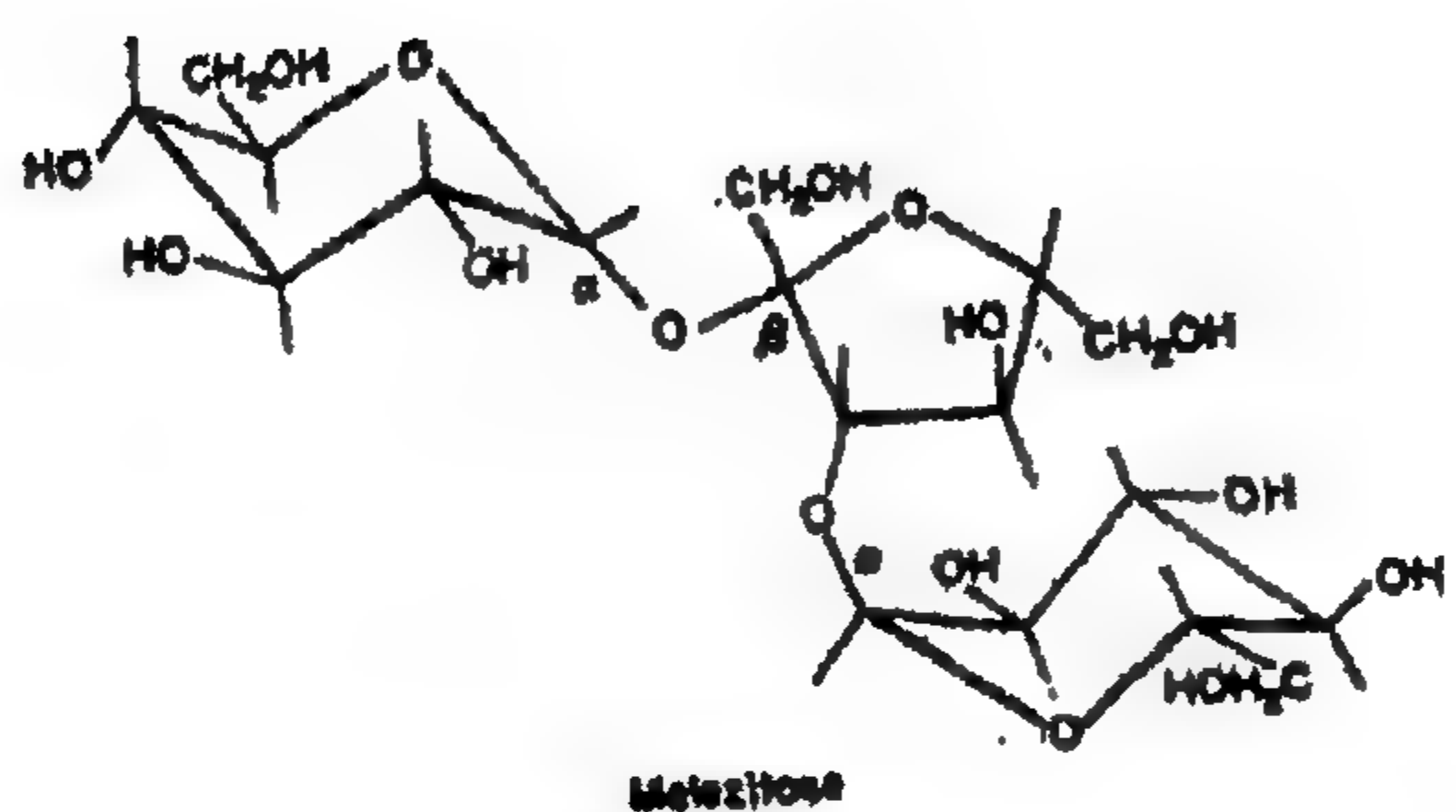
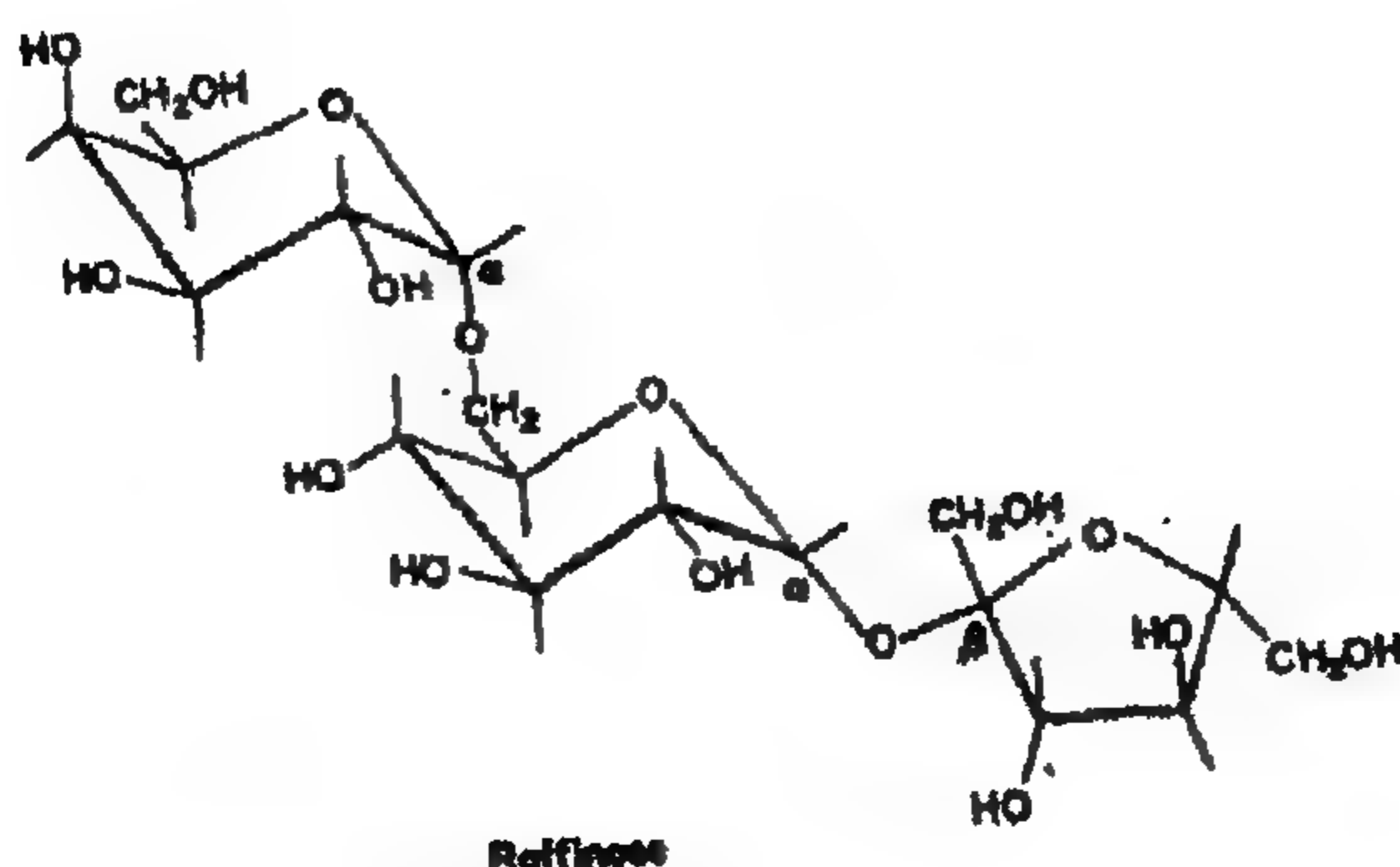
يمكن تنشيط الأنزيم β -Galactosidase بالمركبات المختزلة وكمثال cysteine وكبريتيت الصوديوم Sodium Sulfite وثنائي كبريتيد البوتاسيوم Potassium تعد هذه المنشطات مواد واقية تجاه المعادن الثقيلة (حديد، نحاس) التي بتفاعلها مع مجاميع الثايول ($-SH$) في المركز الفعال للأنزيم تؤدي إلى

تنشيطه. إن الرقم الهيدروجيني الأمثل للأنزيم يختلف تبعاً لمصدره فهو 7.0 للأنزيم الاشر كولاي E.coli و 6.0 للخميرة *Sacharomyces niger* وكما ذكرنا سابقاً فإن للأنزيم β -Galactosidase أهمية صناعية جديدة بالاهتمام إذ بواسطته يمكن تحويل اللاكتوز قليل الحلاوة وقليل الذوبان إلى مزيج من الكلوكوز والكالكتوز الأكثر حلاوة علماً بأن التحلل المائي للاكتوز في المحلول الحامضي عسير جداً. وتعد الأحياء المجهرية *Aspergillus niger* و *Saccharomyces pseudotropicalis* و *candida* مصادر مهمة لهذا الأنزيم صناعياً.

β -D- Fructo Furanoside Fructohydrolase, Ec 3.2.1.26 5-6-8-2

β -Fructofuranosidase

يعد السكروز الركيزة الطبيعية للأنزيم β -Fructo furanosidase واسع الانتشار في الطبيعة، إذ يوجد في الحيوانات والنباتات والأحياء المجهرية. هناك نوعان من الأنزيمات المحللة للسكروز وهما β -Fructo furanosidase و α -Glucosidase تتضمن الأصرة الكلايكوسيدية في السكروز، المجاميع المختزلة لكل من الكلوكوز والفركتوز. يحلل الأنزيم β -Fructofuranosidase الأصرة بين كربون رقم (2) لثمالة الفركتوز وأوكسجين الأصرة الكلايكوسيدية بينما يحلل الأنزيم α -Glucosidase الأصرة بين كربون رقم (1) لثمالة الكلوكوز وأوكسجين الأصرة الكلايكوسيدية ويمكن التمييز بين هذين الأنزيمين باستعمال $H_2^{18}O$ إلا أن هذه الطريقة غير ملائمة للتطبيق العملي ذلك لأنه يجب فصل ناتج التفاعل وتحليلهما باستخدام المراسم الطيفي الكتلي Mass spectrometry. إن أفضل طريقة للتمييز بين هذين الأنزيمين هو استعمال ثلاثيات السكريد Raffinose و Melezitose الموضحة تراكيبها في أدناه (شكل 2-41).



شكل (2- 41) تركيب ثلاثي السكر يد رافنوز وميليزيتوز.

ويمكن تمثيل التفاعلات بالمعادلات الآتية:

(66-2) Raffinose + H₂O α-Glucosidase لا يحصل تفاعل

Raffinose + H₂O $\xrightarrow{\text{B - Fruetofuranosidase}}$ O - α - D - Glucopyranose + D - Fructose

O - α - D. Galactopyranasyl (1 → 6) -

(67-2)

Melezitose + H₂O α- Glucosidase D- Glucose + Turanose

(68-2)

ايزومر للسكروز

(69-2) Melezitose + H₂O B. Fructofuranosidases لا يحصل تفاعل

يتضح من المعادلات (2-66 إلى 2-69) والشكل (2-41) بأن كلا من الأنزيمين α -Glucosidase و β -Fructo furanosidase ذو تخصص لثمالة سكر (كلوكوز أو فركتوز على التوالي) مرتبطة بأصرة ككلايكوسيدية من خلال ذرة الكربون الأنوميرية وأن أي تحويل في ثمالة السكر وكمثال في الكربون رقم 6 لثمالة الكلوكوز لسكر الرافتوز وفي الكربون رقم 3 لثمالة الفركتوز في الميليزيتوز Melezitose يمنع الفعالية التحفيزية للأنزيم α -.

α -Glucosidase تجاه الرافتوز وللأنزيم β -Fructofuranosidase تجاه الميليزيتوز، وبهذه الطريقة يمكن التمييز بين الأنزيمين بسهولة.

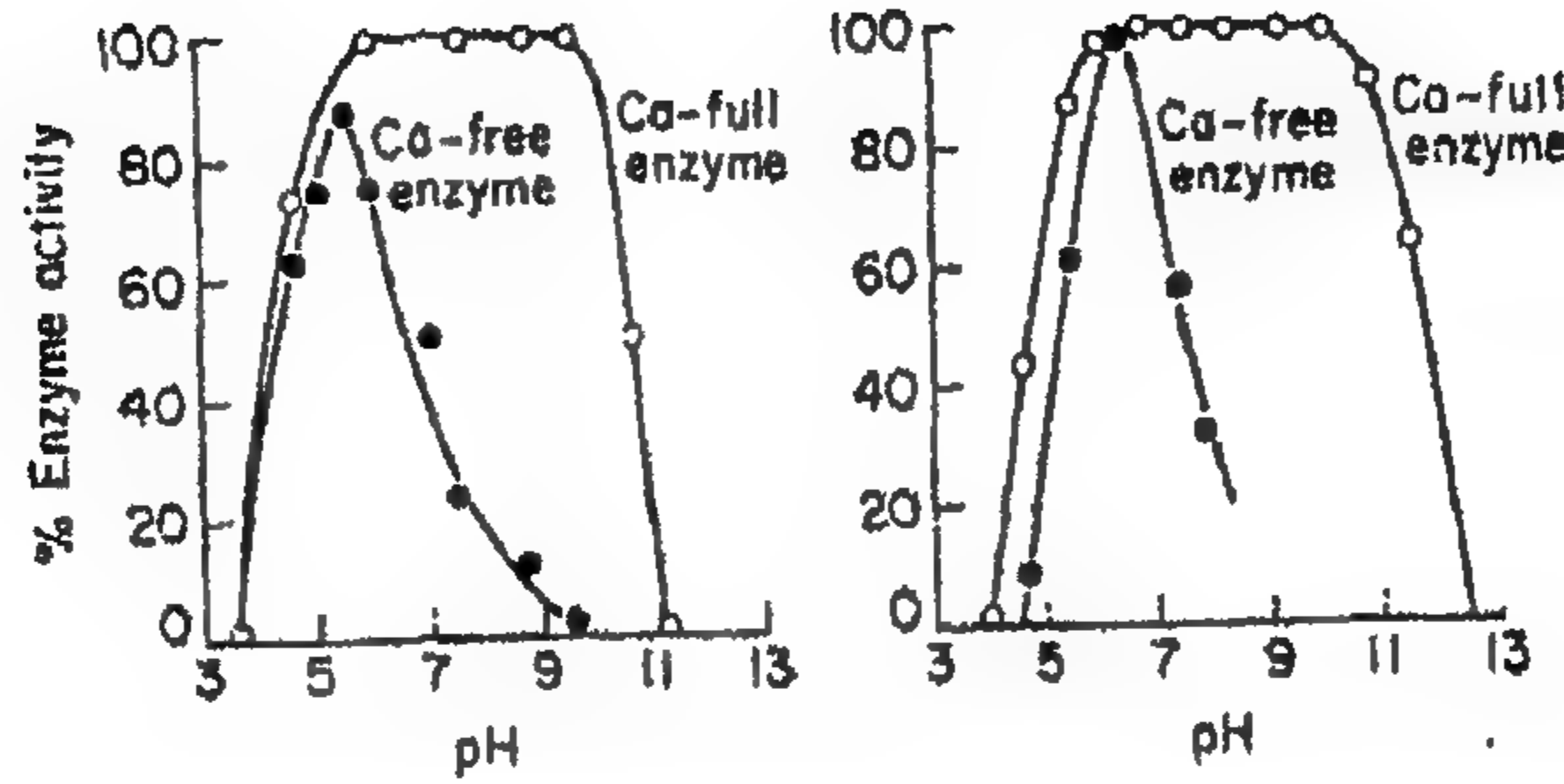
إن الرقم الهيدروجيني الأمثل للأنزيم β -Fructofuranosidase المستخلص من الخميرة *S.cerevisiae* هو 4.5 بينما يظهر منحنى الفعالية ضد الرقم الهيدروجيني (شكل 2-38) مدى واسعاً للرقم الهيدروجيني الأمثل (3.5-5.5) للأنزيم α -Glucosidase.

2-6-8-2 (4- α -D- Glucan glucanohydrolase, E.C. 3.2.1.1.1)

α - Amylase

ينتشر الأنزيم في المملكة النباتية والحيوانية ويوجد في الحيوانات الراقية في اللعاب والبنكرياس ويعلب درواً كبيراً في تحليل النشا في الغذاء حيث يحلل مائياً الأواصر الفا 1-4 الكلايكوسيدية بصورة عشوائية وينتج عن عمله مزيج من قليلات السكر يد يمكن تحليلها مائياً بأنزيمات أخرى محللة لثنائيات السكر يد Disaccharides و ثلاثيات السكر يد Trisaccharides وبذلك تتحول إلى أحاديات السكر يد التي تمتص من قبل الأمعاء الدقيقة. يعد الكالسيوم تميم العامل Cafactor لهذا الأنزيم إذ أنه ضروري لفعاليته وعند وجود أيونات الكالسيوم هذه، تزداد مقاومة الأنزيم للحرارة ولتغير الرقم الهيدروجيني ذلك

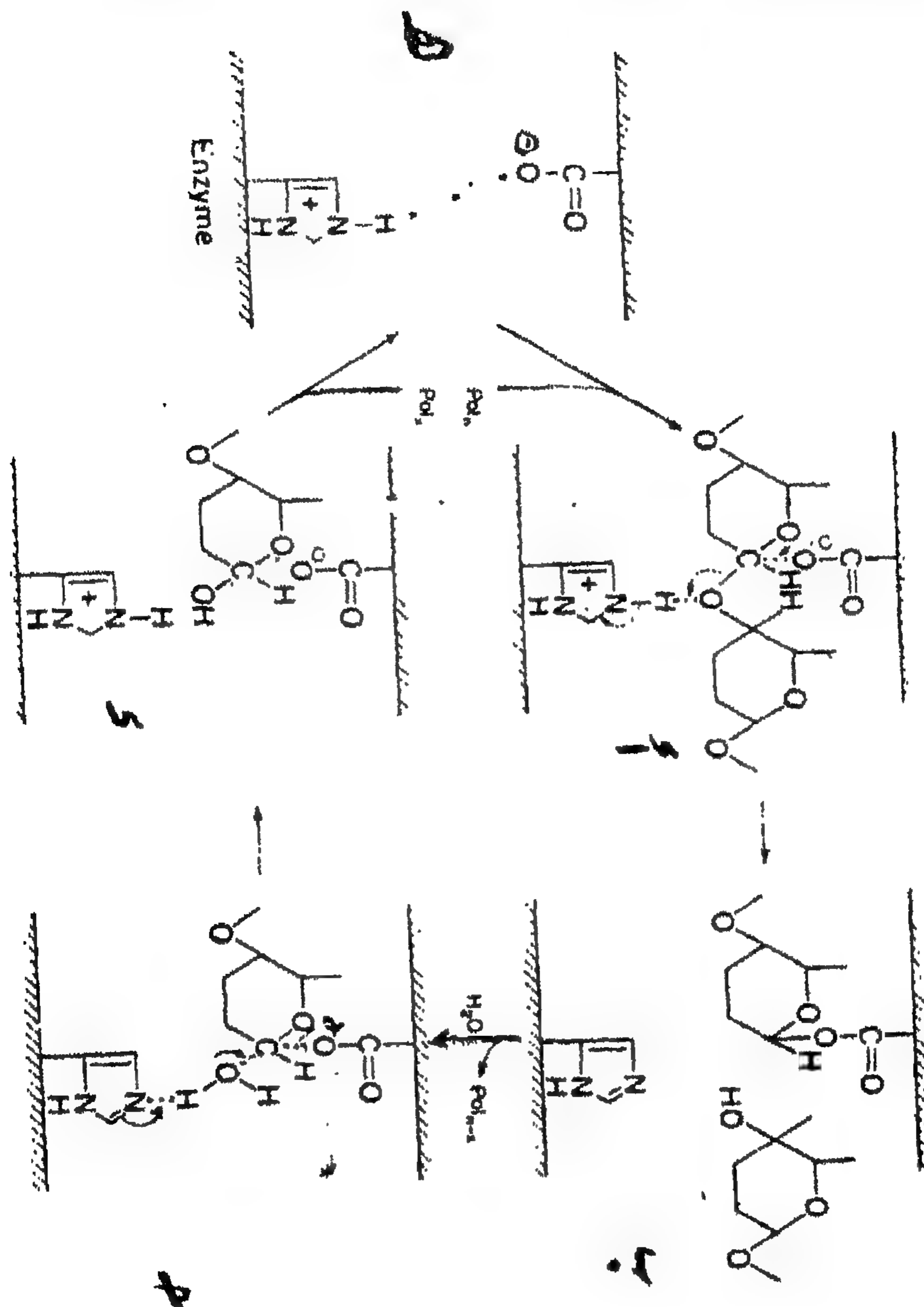
لأن أيونات الكالسيوم تحافظ على التركيب الثانوي والثالثي لجزيئة الأنزيم. وقد تم إثبات ذلك عملياً إذ يوضح الشكل (2-42) بأن إزالة Ca^{2+} كلياً من الأنزيم تؤدي إلى فقدان نشاطه وجعله أقل استقراراً في الرقم الهيدروجيني القاعدي (شكل 2-42).



شكل (2-42) تأثير أيونات الكالسيوم في ثبات الأنزيم α -Amylase ثم حضن الأنزيم لمدة 20 ساعة في درجة 25°م وفي أرقام هيدروجينية مختلفة وقيست الفعالية المتبقية في كل رقم هيدروجيني للأنزيم بوجود (5-5) وعدم وجود الكالسيوم (5-5). الشكل إلى اليسار لأنزيم α -Amylase لبكتيريا β -Subtilis

الآلية المقترحة لعمل الأنزيم

يوضح الشكل (2-43) الآلية المقترحة لعمل أنزيم. يحتوي الموقع النشط للأنزيم على مجموعة كربوكسيل ومجموعة حاوية على نتروجين لا يعرف على وجه التحديد طبيعتها إذ تمتلك قيمة Pka تتراوح بين 6.5 و 8.0 وقد تكون اميدازول Imidazol أو مجموعة امينو. إن الأدلة العملية لتأثير الأكسدة الضوئية أو أيون الكلوريد في نشاط الأنزيم الفا-اميلاز لبكتيريا β -Subtilis وكذلك حرارة التآين 4 kcal/mol توحي بأن المجموعة هي اميدازول.

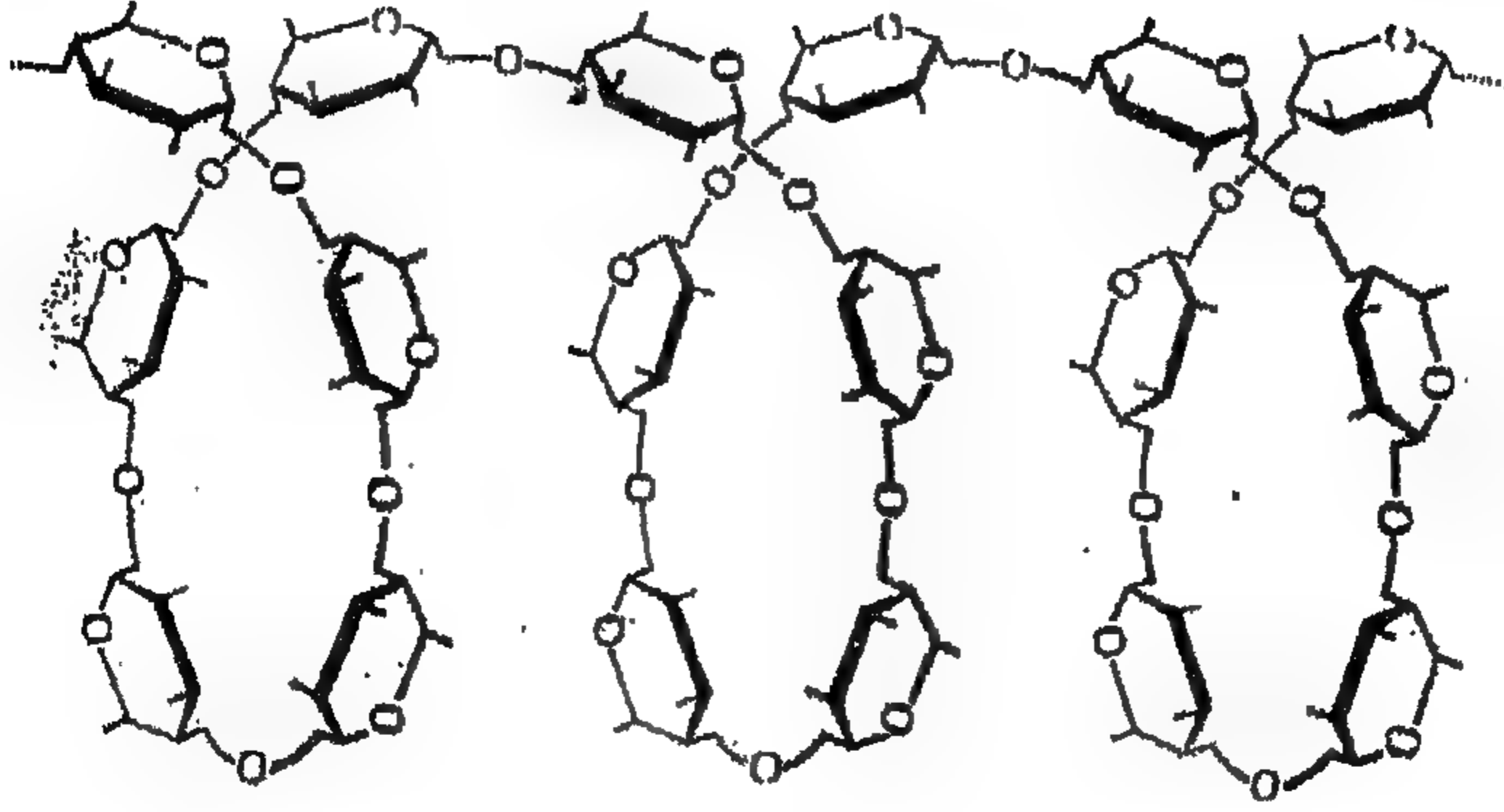


شكل (2- 43) الآلية المقترحة لعمل الانزيم α - Amylase

عند حضن الأنزيم والركيزة، يتكون معقد امتزازي Adsorptive complex وينظم بشكل بحيث تكون الأصرة الكلايكوسيدية للركيزة

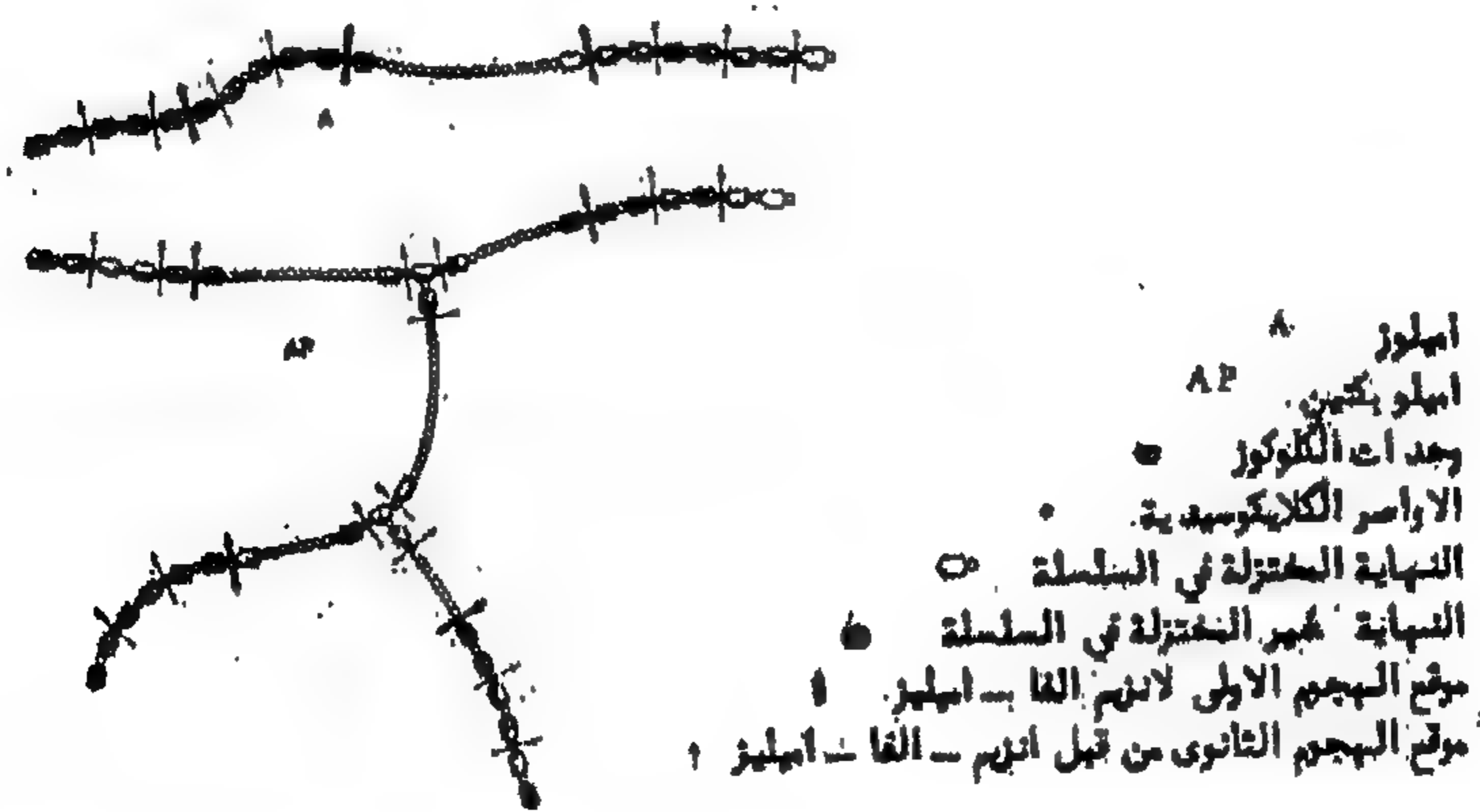
مجاورة لمجموعة الاميدازول ومجموعة الكربوكسيل (شكل 2-43أ). تهاجم مجموعة الكربوكسيل سالبة الشحنة والمحبة للقوة، كربون رقم (1) للركيزة وهذا الهجوم يساعد في برتنة Protonation أوكسجين الاصرة الكلايكوسيدية. ويكون مصدر البروتون، أيون الاميدازول وهذا مثال للتحفيز الحامضي العام. يتكون نتيجة لذلك مركب وسطي ليشتمل على الأنزيم المرتبط بالركيزة Glycosyl-enzyme intermediate (شكل 2-43ب) ويمثل ما تبقى من جزيئة البوليمر بعد إزالة ثمالة كلوكوسيل منها. تحفز مجموعة الاميدازول غير المبرتنة Nonprotonated تفاعل إزالة الكلوكوكسيل وهي بذلك مثال للتحفيز القاعدي العام إذ تزيل بروتون من الماء (شكل 2-43ج) مخلفة OH^- لمهاجمة كربون رقم 1 للمعقد Glycosyl-enzyme وبذلك تصبح مجموعة الاميدازول مبرتنة وينفصل البوليمر المتبقي Polx (شكل 2-43د) وبذلك يعود الأنزيم لهيأته الأصلية (شكل 2-43هـ) ليعمل على جزيئة بوليمر من جديد.

لأنزيم الفا- اميلاز دور كبير جدا في تحضير الخبز إذ يهاجم الأنزيم مواقع عديدة في الإميلوز والاميلوبكتين مما يؤدي إلى انخفاض لزوجة غراء النشا لهذا يدعى الأنزيم $\alpha\text{-amylase}$ بأميلاز الاسالة لتقليله لزوجة النشاء وجعل المحلول أكثر سيولة. إن مهاجمة الأواصر الداخلية الفا 1-4 لعديد السكريد بصورة عشوائية يؤدي إلى تكوين قليات السكريد الحاوية على 5 إلى 7 وحدات كلوكوز وهذا العدد يطابق وحدات الكلوكوز الموجودة في لفة واحدة من لولب جزيئة الإميلوز (شكل 2-44).



شكل (2- 44) جزيئة الأميلوز ومواقع الهجوم الأولي α - Amylase للأواصر α - 1.4 من السلسلة يستطيع الأنزيم مهاجمة الأميلوز والاميلوبكتين ويتكون نتيجة لفعالية قليلات متكونة من 5- 7 وحدات كلوكوز.

لا تتكسر الأواصر الفا 1-6 لجزيئة الإميلوبكتين بواسطة الالف- اميلازو ولهذا يتكون أخيرا نتيجة لفعل هذا الأنزيم في الإميلوبكتين، ايزومالتوز Isomltose ويمكن توضيح الفعالية الأنزيمية في الإميلوز والإميلوبكتين بالشكل (2-45).



شكل (2- 45) فعل أنزيم α - Amylase في الأميلوز والاميلوبكتين تمثل الأسهم الشخينة مواقع الهجوم الأولية للأنزيم والأسهم الخفيفة مواقع الهجوم الثانوية.

ومن الناحية النظرية يمكن الحصول على 87% مالتوز و13% كلوكوز نتيجة لفعل الفا- اميلاز في الإميلوز، و73% مالتوز و8% ايزومالتوز و19% كلوكوز لفعل نفس الأنزيم في الإميلوبكتين. إلا أنه يتعذر الحصول على هذه النسب عمليا في نظام مغلق لأن المالتوز المتكون يثبط الأنزيم تنافسياً. وفي الصناعة يجري العمل عادة في نظام مفتوح 'Open System' حيث يتحول المالتوز الناتج بواسطة أنزيمات الخمائر إلى كلوكوز لا يلبث أن يتخمر إلى CO_2 إيثانول.

2-8-6-17 β - Amylase (E.C. 3.2.1.2) α -D-Glucan malothdrolase, 4

. يحلل هذا الأنزيم الأواصر الفا 1 \leftarrow 4 الكلايكوسيدية للنشأ والكلايكوجين بحيث يزل وحدات المالتوز من النهاية غير المختزلة للسلسلة مع تحويل شاكلة الكلايكون Glycone على ذرة الكربون رقم (1) من الصيغة الفا إلى الصيغة بيتا.

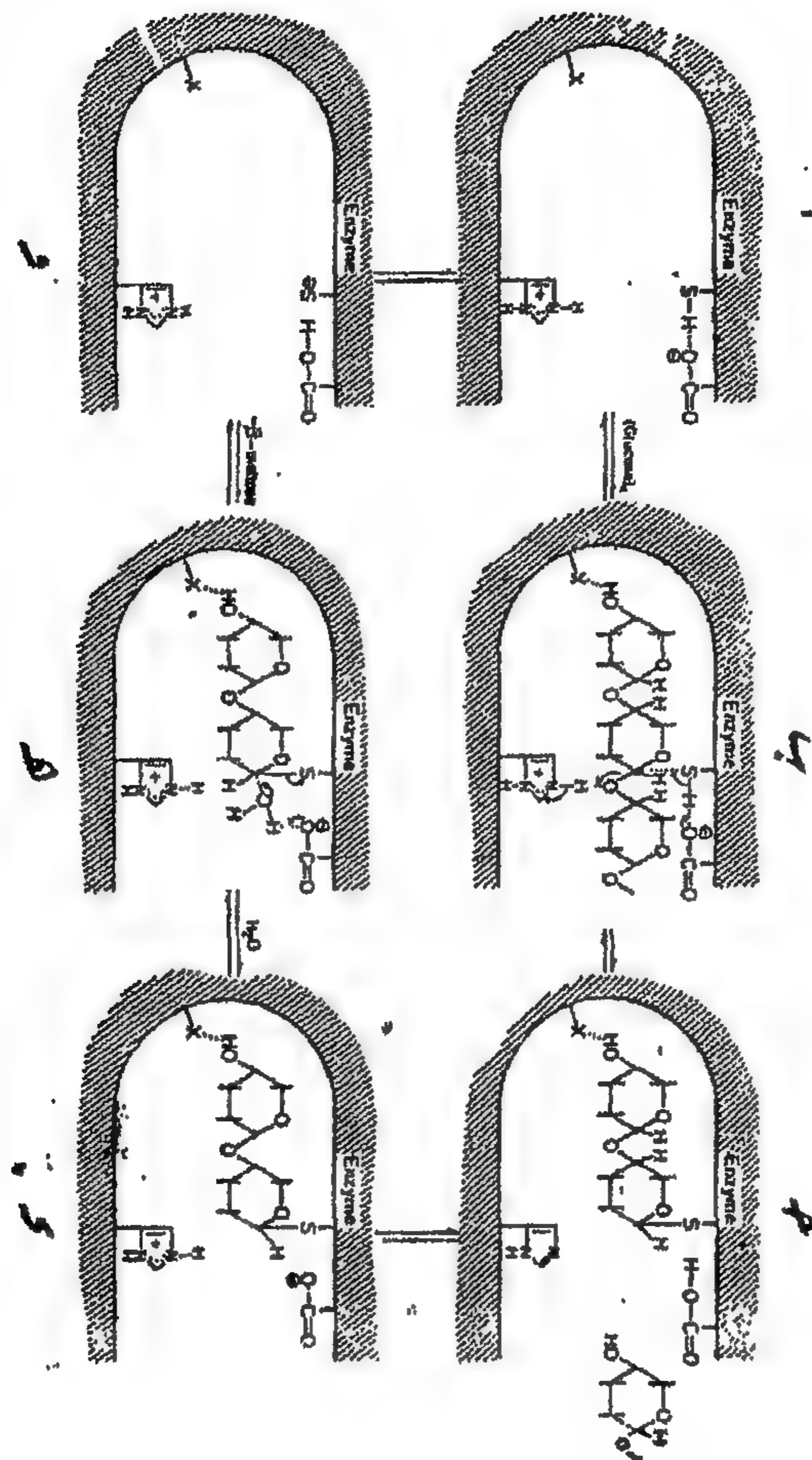
يوجد الأنزيم بيتا- اميلاز في النباتات العليا بصورة رئيسية وقد أمكن دراسته بالتفصيل بعد بلورته من المصادر المختلفة مثل الحنطة والشعير وفول الصويا والبطاطا الحلوة Sweet potato.

لأنزيم بيتا- اميلاز أهمية تذكر عند الطهو البطيء للبطاطا الحلوة حيث يحول كميات كبيرة من النشأ إلى سكر المالتوز.

الوزن الجزيئي للأنزيم المستخرج من البطاطا الحلوة 152000 وبصورة عامة يكون الوزن الجزيئي للأنزيم بيتا- اميلاز أعلى منه للأنزيم الفا- اميلاز. الرقم الهيدروجيني الأمثل للأنزيم بيتا- اميلاز يقع في المدى 5-6. تثبط كواشف مجموعة السلفهايدريل -SH نشاط الأنزيم مما يشير إلى أهمية هذه المجموعة في النشاط الأنزيمي.

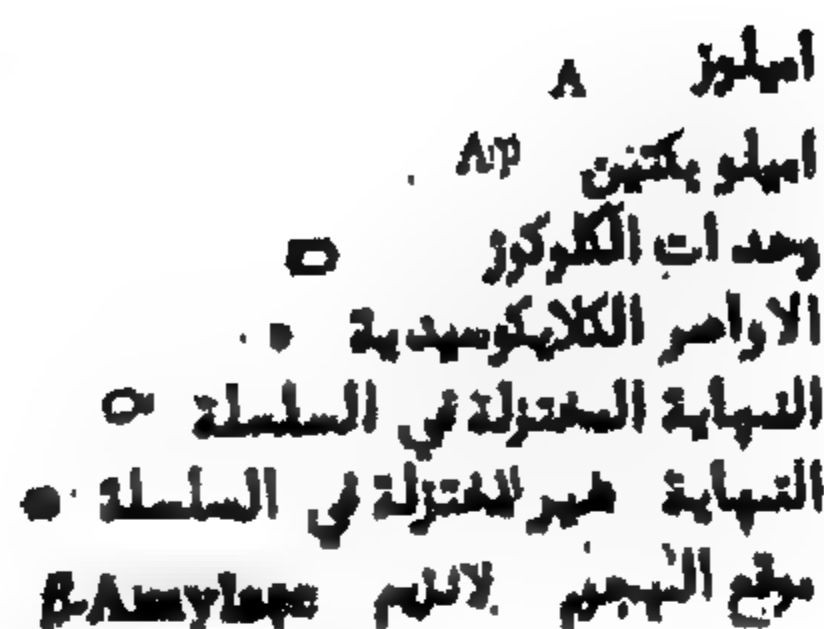
الآلية المقترحة لفعالية الأنزيم التحفيزية

يوضح الشكل (2-46-أ) المجاميع الأربعة الفعالة في الموقع النشط للأنزيم وهي مجموعة $-SH$ ومجموعة الكربوكسيل $-COO$ ومجموعة الاميدازول والمجموعة x القابلة للتأصر الهيدروجيني مع مجموعة الهيدروكسيل على الكربون رقم 4 لثمالة Residue السكر في النهاية غير المختزلة للجزيئة عند تكوين المعقد بين الأنزيم والركيزة (2-46-ب)، تهاجم المجموعة $-SH$ نواة الكربون رقم (1) وتسهل هذه العملية بفعل مجموعة الكربوكسيل التي تعمل بمثابة قاعدة بينما تقوم مجموعة الاميدازول بمثابة الحامض وتهب الهيدروجين لأوكسجين الأصرة الكلايكوسيدية كما في الشكل (2-46-ب) مما يؤدي إلى تكوين المركب الوسيطى Maltosyl-enzyme intermediate (شكل 2-46) حيث يرتبط المالتوز بأصرة تساهمية بالأنزيم عن طريق $-S-$ وفي المرحلة الأخيرة لهذه الآلية، تسهل مجموعة الكربوكسيل (التي تعمل بوصفها قاعدة) مهاجمة الماء للكربون رقم (1) لتحرير بيتا-مالتوز (انظر الشكل: ه نفسه) وعند ذلك يرجع الأنزيم لحالته الأصلية.



شكل (2- 46) الآلية المقترحة لانزيم β - Amylase

يوضح المخطط (2- 47) فعالية الأنزيم بيتا- اميلاز في الإميلوز والإميلوبكتين. تدل الأدلة العملية على أن الأنزيم الإميلاز يحمل على سطحه ثملات Residues لأحماض امينية غير قطبية ولقد تم إثبات ذلك من قبل الباحث دلاور صابر D.Sabir عام 1984 حيث تمكن من عزل الأنزيم من مادة (من السما) بواسطة كروماتوغرافيا التأثير الهيدروفوبي Hydrophobic interaction Manna Chromatography كما تمكن الباحثان بركنر Bergner وصابر من عزل اميلاز عسل النحل وفصله بواسطة Phenyl-butylamine Sepharose 4B



شكل (2- 47) مخطط يوضح فعالية الانزيم بيتا - أميلاز في الأميلوز والاميلوبيكتين.

مما يدل على وجود ثمالات الأحماض الأمينية غير القطبية على سطح الأنزيم وكمثال ثالثين، لوسين، ايزولوسين، فنيل الانين، تيروسين وتربتوفان. ولقد كان يعتقد منذ مدة طويلة بأن هذه الثمالات ترتب نفسها داخل الشكل الكروي Globular لجزيئة البروتين فقط وأن هذا الترتيب مفيد لاستقرارية الجزيئة إلا أن Klotz تمكن عام 1970 - باستخدام الأشعة السينية - من البرهنة من أن أكثر البروتينات تملك جزءا قليلا جدا من الأحماض الأمينية الهدروفوبية على سطحها وأن هذه الأحماض تتأثر مع المحيط ولقد اثبت باحثون آخرون فيما بعد فكرة Klotz وكمثال Hjerten عام 1973 و Hofstee عام 1973 و Porath عام 1973 وكذلك Shaltiel عام 1973 وأوضحوا إمكانية حصول تأثيرات هيدروفوبية بين المجاميع الهدروفوبية الجانبية للبروتين من جهة وبين مطرقة الهلام -Gel matrix المستخدم في فصل هذه البروتينات من جهة أخرى - وبوجود الماء.

(1.4 α -D-Glucan glucohydrolase, Ec. 3.2.1.3) Glycoamylase 1 8-6-8-2

يشتر هذا الأنزيم الأواصر الكلايكوسيدية الخارجية ألفا 1— لسلسلة
عديد السكر يد مزيلاً بذلك وحدات الكلوكوز المتتالية من النهاية غير المختزلة
لسلسلة الركيزة.

وهذا يكون الكلوكوز فقط ناتج الفعالية التحفيزية للأنزيم وهذا يميز الأنزيم Glucoamylase من ألفا وبيتا- اميلاز كما يحفز الأنزيم أعلاه التحلل للأواصر ألفا 1—6 أيضاً (شكل 2-48).



شكل (2-48) فعالية الأنزيم Glucoamylase في الأميلوز والأميلوبكتين.

يعد العفن Asp. Niger. Asp. Oryzae أهم مصدر للأنزيم الذي يعمل في المدى 4-5 للرقم الهيدروجيني وفي الدرجة الحرارية 50-60°م. ويعد الأنزيم الوحيد المحلل للنشا. في فترة قصيرة نسبياً - إلى كلوكوز.

2-8-9 Inulase (2.1- D-Fructan fructonhydrolase, Ec. 3.2.1.7)

يحلل الأواصر β -1.2-Fructan لجزيئة الأينولين من النهاية الحاوية على الفركتوز مؤدياً بذلك إلى تحرير الفركتوز تبعاً (شكل 2-49). يتخصص هذا الأنزيم للركيزة أنيولين ويؤثر قليلاً في الركائز سكروز، رافنوز وميليزيتوز.

يؤدي إضافة أنزيم السليلاز Cellulase المحضر تجارياً من Asp. Niger إلى التحلل الكامل للإنيولين لأنه يحوي على نشاط ثانوي لأنزيم الإينولاز Inulase.

يوجد الإنيولاز في الخميرة *Saccharomyces* إلا أنه لم يتم الاستفادة منه في الصناعة.



مهاجمة الإنزيم إنيولاز α الأواصر السكرياتيدية

شكل (2- 49) فعالية الإنزيم *Inulase*. يحلل الإنزيم الأواصر $\beta - 1.2 - Fructan$ لجزيئة الأنولين من النهاية الحاوية على شكل فركتوز مؤدياً إلى تحرير الفركتوز تباعاً حتى طرف السلسلة الآخر حيث تتحرر ثمالة الكلوكوز الطرفية.

10-6-8-2

poly 1.4- α -D – galacturonide glycanohydrolase, Ec.3.2.1.15 Polygalacturonase

ويدعى أيضاً *Polygalacturonidase* يحلل هذا الأنزيم الأواصر الفا- 4 الكلايكوسيدية بين ثمالات الكالتكوز للبكتين.

هناك أربعة أنواع من الأنزيم *Polygalacturonase* توضع في دون مجموعتين Subgroups نسبة إلى تخصصها للركيزة وآلية عملها وهي:

أ- *Exo-Polygalacturonidase* و *poygalacturonidase* و *Polymethylgalacturon-* idase

ب- *Endo- polygalacturonidase*؛ وتضم *Endo- polygalacturonidase* و *polymethylgalacturonidase Endo*.

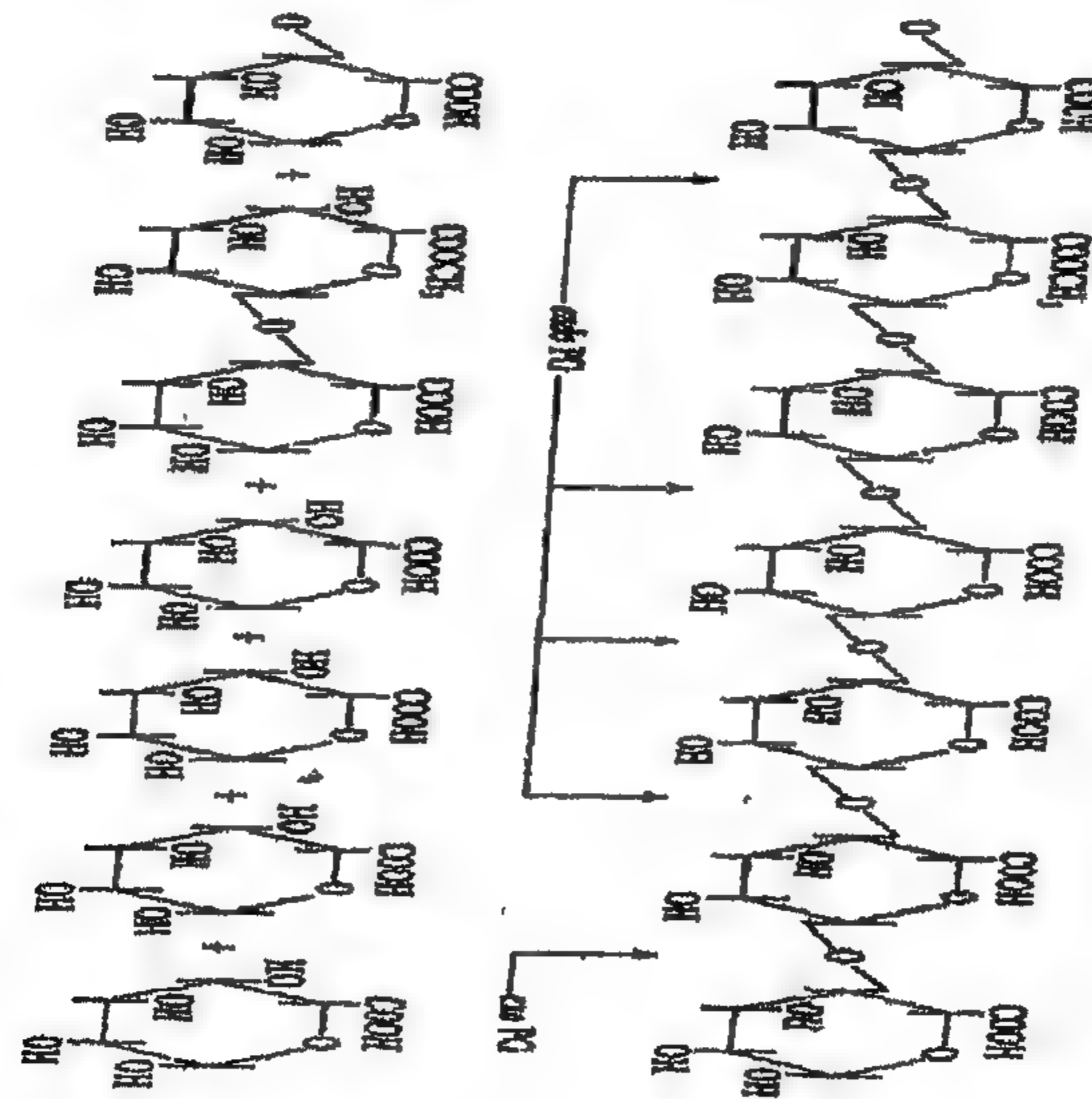
يحلل الأنزيم *Exo- polygalaturonidase* الأواصر ألفا- 4 القريبة من

ثمالات حامض الكلاكتيرونك Galacturonic الذي يملك مجاميع كربوكسيلية حرة، يتم تحليل هذه الأواصر بشكل متوال من نهايات جزيئة البكتين مؤدياً إلى تحرر حامض الكلاكتيرونك.

أما الأنزيم Exo-polymethylgalacturonidase فإنه يحلل الأواصر ألفا 1-4 القريبة من ثمالات حامض الكلاكتيرونك المؤسترة بالمثيل وعلى التوالي أيضاً من نهايات جزيئات البكتين محرراً بذلك Methylgalacturonates.

أما الأنزيمات المنتمية لدون المجموعة Endo- polygalacturonidase فإنها تختلف عن سابقتها من حيث تحليلها للأواصر ألفا 1 ← 4 بشكل عشوائي.

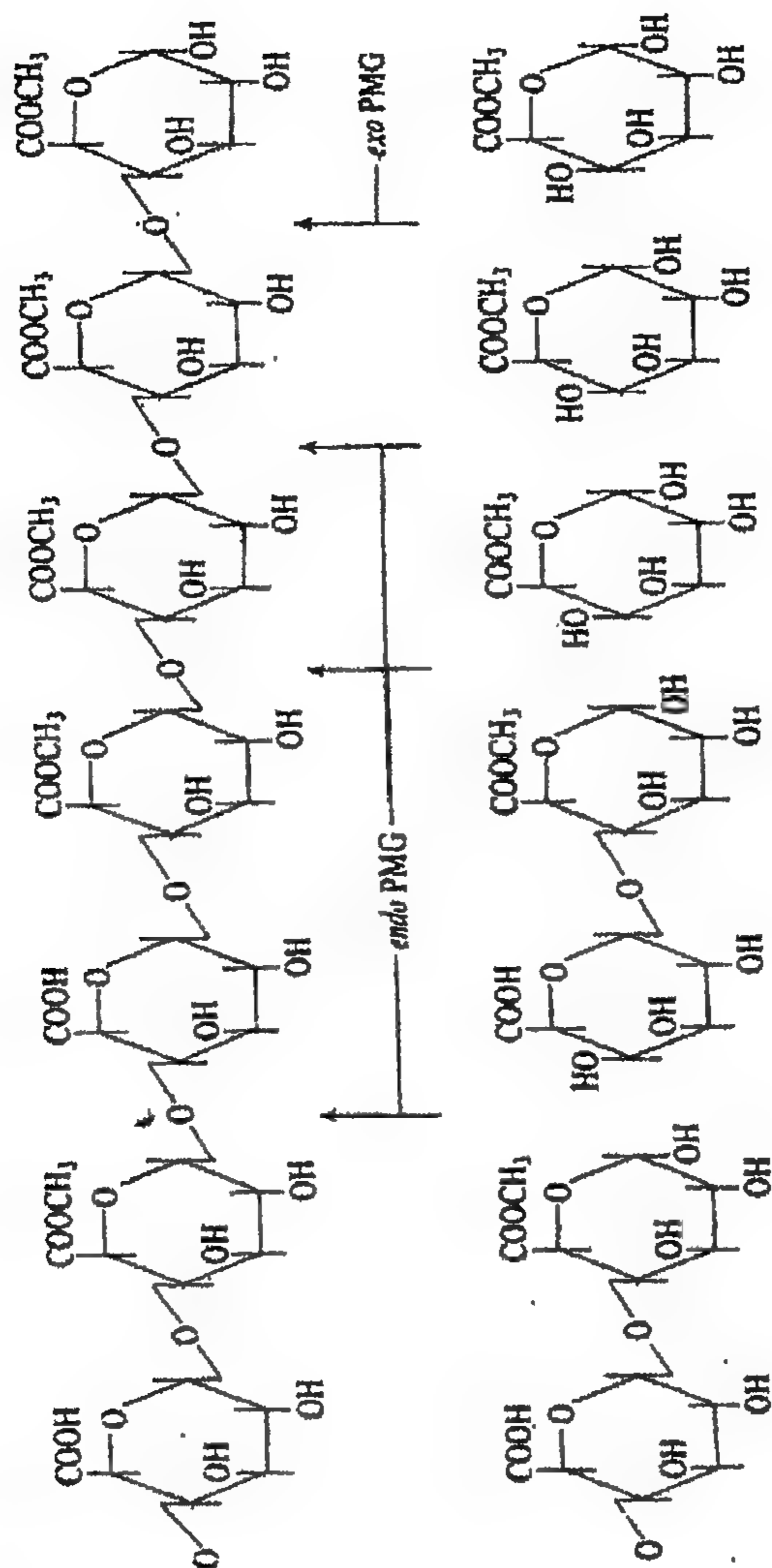
يحلل الأنزيم Endo- polygalacturonidase الأواصر ألفا 1 ← 4 بين ثمالات حامض الكلاكتيرونك الذي يمتلك مجاميع كربوكسيل حرة مؤدياً إلى تحول البكتين إلى قطع من Oligogalacturonides ذات أوزان جزيئية واطئة.



شكل (2- 50) الفعالية التحفيزية لكل من الانزيمين endo PG

Endopolygalacturonidase و exo- PG Expopolygalacturonidase في البكتين.

أما الأنزيم Polymethylgalacturonidase Endo - فإنه يحلل الأواصر ألفا 1-4 بين ثملات حامض الكلاكتيرونك التي تكون مجاميع الكريوكسيل فيها مؤسترة بالمثل وبالتالي تتحول جزيئة البكتين إلى Oligogalacturonides ذات أوزان جزيئية واطئة. يوضح الشكلان (2-50) و(2-51) الأنواع الأربعة المذكورة للتفاعلات الأنزيمية هذه إن مصادر الأنزيمات Polygalacturonidases هي النباتات الزهرية (الطماطا، الجزر، القرع، الفجل) والعفن *Asp.niger* والخميرة *Saccharomyces fragilis* والبكتريا *Erwinia sp.* *Klebsiella sp.* يحوي المصدر الواحد عادة الأنزيمات المختلفة باستثناء القليل منها كالخميرة *Fragilis* *Sacch.* التي تحوي فقط الأنزيم Endo-polygalacturonidase وعلى الأغلب فإن الأحياء المجهرية تنتج الأنزيمات المختلفة التي تحلل البكتين. إن درجة الحرارة المثلى للأنزيمات المحللة للبكتين مهمة جدا من الناحية التكنولوجية فعند ترويق عصير الفواكه مثلاً يجب رفع درجة الحرارة في أثناء العملية وإن درجة الحرارة المثلى للأنزيم Polygalacturonase من العفن *Asp. Niger* هي 45°م في الرقم الهيدروجيني 5.5 إلا أن الأنزيم يبقى فعالاً وبصورة جيدة في درجة 60°م.



شكل (2- 51) الفعالية التحضيرية لكل من الانزيمين endo PMG و Endopolygalacturonidase و exo- PMG Expopolygalacturonidase في البكتين.

من أقوى المنشطات لهذه الأنزيمات هو المركب Rubidium chloride وتستخدم الأنزيمات المحللة للبكتين هذه في مجال تصنيع الفواكه وفي تحضير

عصير الفواكه والجلي وتحضر صناعياً عادة من أنواع العفن: *Aspergillus* و *Penicillium*.

β-1.4-Glucan 4-glucanhydrolase E.C.3.2.1.4) Cellulase 10-6-8-2

يحفز السليلاز Cellulase التفاعل الآتي:



إن استعمال هذا الأنزيم ضيق حالياً في صناعات الأغذية ومن فوائده إذابة وتسكير Saccharifying السيلوز في الأغذية ذات الألياف الكثيرة وبذلك تصبح أكثر استساغة. كما استخدم هذا الأنزيم لترويق العصير كعصير الحمضيات والفواكه الأخرى عندما يكون تضبيب العصير ناتجاً عن السيلوز.

8-2-7 الأنزيمات المحللة للأواصر الببتيدية Peptide hydrolases

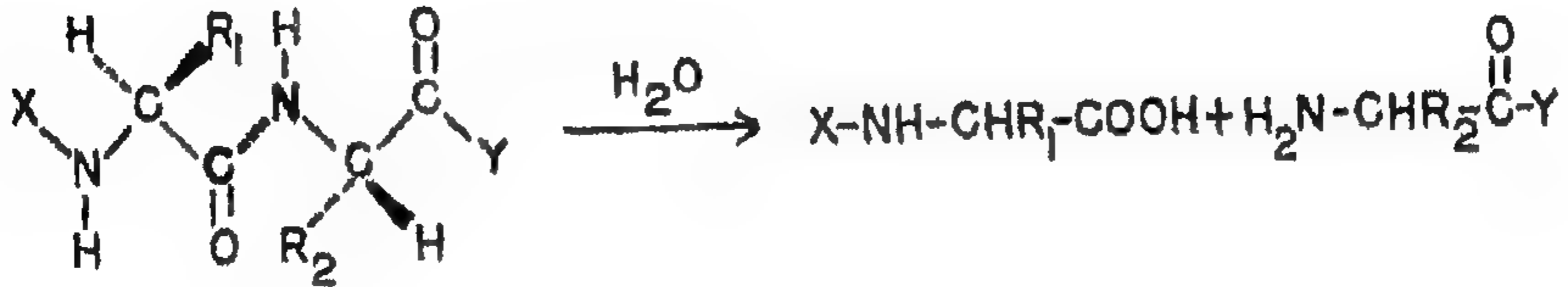
تعطى هذه الأنزيمات رقم الشفرة EC 3.4 تبعاً لتصنيف النظامي للأنزيمات، وتحفز التحلل المائي للأواصر الببتيدية وتعطى الأسماء الشائعة بروتيازات Proteases عندما تحفز التحلل المائي للبروتينات فيما تعمل الببتيدازات على الببتيدات.

تشكل هذه الأنزيمات أهمية خاصة لعلماء التغذية. إن الأنزيمات ببسين Pepsin وتريسين Trypsin وكيموتريسين Chymotrypsin و Carboxypeptidase و Aminopeptidase مسؤولة عن التحلل المائي للبروتينات التي يتناولها الإنسان إذ تحولها في القناة الهضمية للإنسان إلى أحماض أمينية. كما أن بعض الأنزيمات المحللة للبروتينات مسؤولة عن تخثر الدم ويوجد البعض من هذه الأنزيمات في الخلايا البلعمية Phagocytic cells التي تبتلع الأجسام الغريبة وتكون مسؤولة عن التحلل المائي للبروتينات الغريبة.

تحتوي الخلايا حقيقية النواة Eucaryotes في عضيات اللايسوزوم Lysosomes على عدد من الأنزيمات المحللة للبروتينات فمثلاً يكون أنزيم الـ Cathepsin مسؤولاً عن تقويض Catabolism بروتينات الخلية.

إن الأنزيمات المحللة للبروتينات من أهم المجاميع الأنزيمية في تصنيع الأغذية حيث تستعمل في إنتاج الجبن وتطرية اللحم Meat tenderization وتحويل صفات بروتينات الحبوب في الخبز.

يمكن تمثيل التفاعل العام المحفز بالأنزيمات المحللة للأواصر الببتيدية كما يأتي:



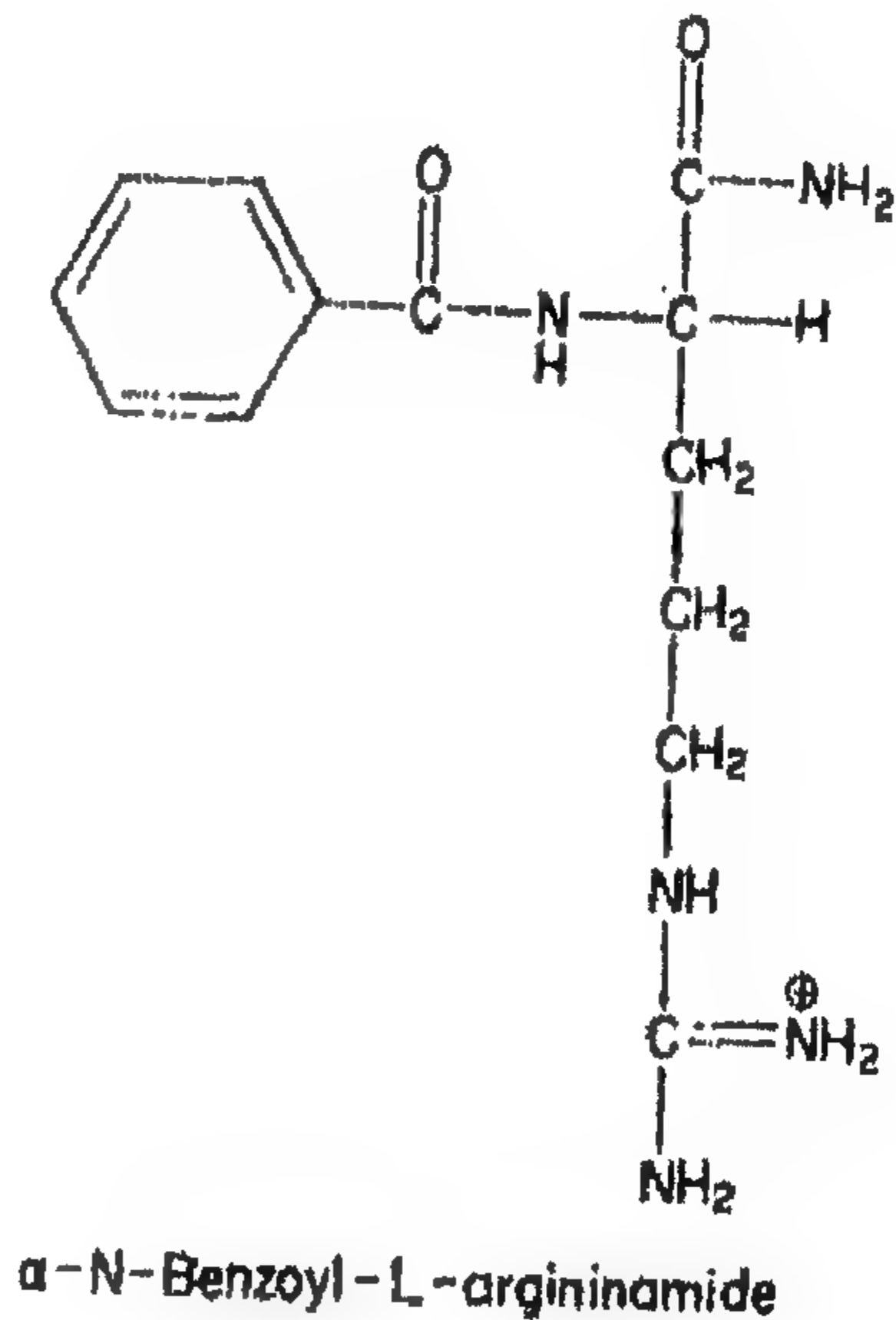
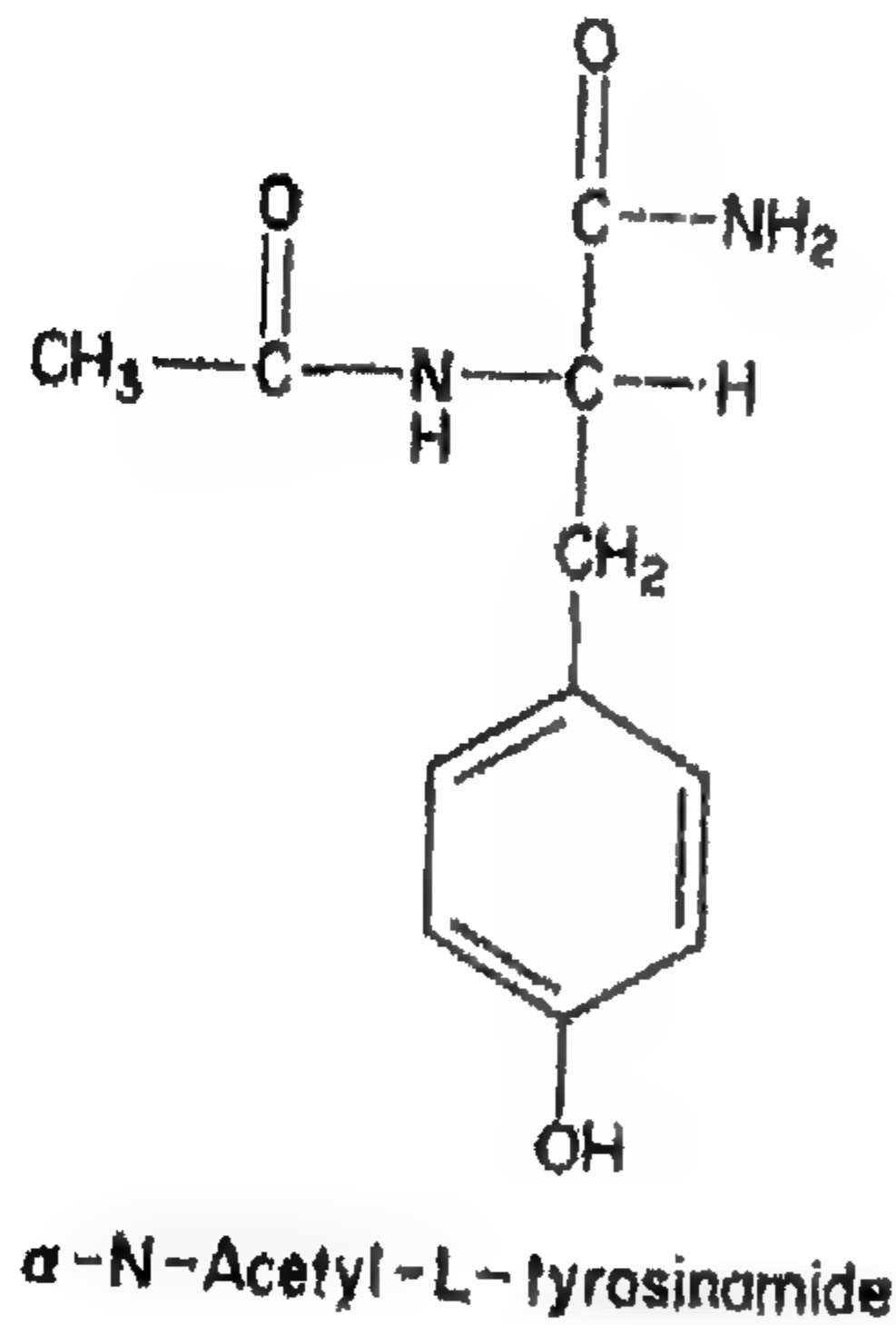
... (2-70)

2-7-8-1 تخصص الأنزيمات المحللة للأواصر الببتيدية

لتحليل الأواصر الببتيدية مائياً يجب توفر بعض الشروط في الركيزة فمثلاً يعتمد تحليل الأصرة على طبيعة المجاميع الجانبية R_1 أو R_2 (معادلة 2-70) أو على شاكلة معينة للأحماض الأمينية فمثلاً الشاكلة (L-). كما قد تتطلب بعض الأنزيمات طبيعية كيميائية معينة لـ X و Y (معادلة 2-70) كأن تكون هيدروجين وهيدروكسيل على التوالي وهلم جرا. أما حجم الركيزة فإنه غير مهم لعدد من أنزيمات البروتياز. ولتوضيح ما جاء أعلاه، نجد مثلاً أن الأنزيم Chymotrypsin يحلل الأواصر الببتيدية إذا كانت R_1 (معادلة 2-70) السلسلة الجانبية لثمالة Tyrosyl و phenylalanyl و Tryptophanyl أما التربسين فيتطلب

أن تكون R_1 السلسلة الجانبية للارجنين أو اللايسين (الأحماض الأمينية الالاقاعدية) ومن ناحية أخرى فإن للبيسين والكاربوكسي بيتيداز خصوصية تجاه R_2 حيث أن كلا الأنزيمين يحلل الأصرة الببتيدية بسرعة عالية عندما تكون R_2 سلسلة جانبية للفنيل الانين وجميع ما ذكر من الأنزيمات يتطلب أن تكون الأحماض الأمينية ذات الشاكلة L أي L-Amino acids أي الصيغة شائعة الوجود في الطبيعة.

أما حجم الركييزة فإنه ليس بذى أهمية لعدد من أنزيمات البروتياز وكمثال التريسين والفا- كيموتريسين اللذين تقدر فعاليتهما في المختبر باستخدام الركييزتين α -N- benzoyl-L- tyrosinamide و α -N- argininamide (شكل 2-52)



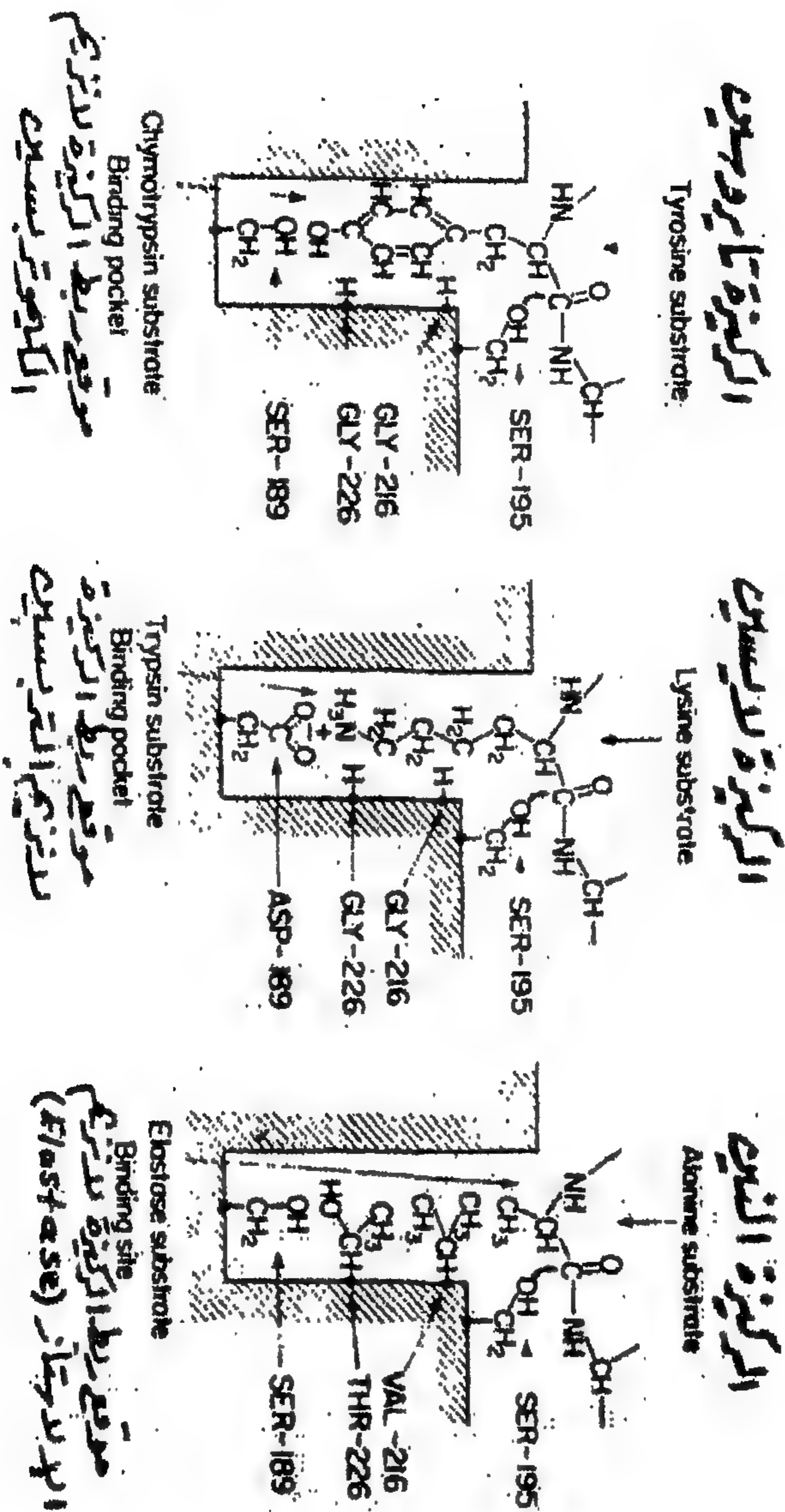
شكل (2- 52) تركيب $\alpha = N - benzoyl - L - argininamide$

$\alpha - N - Acetyl - L - tyrosin amide$ وهما ركيزتان للترسين والكيموترسين على التوالي.

وكما يلاحظ فإن كلتا الركيزتين المذكورتين يحتوي على حامض أميني واحد ولكن طبيعة مجموعة R_1 (انظر المعادلة 2-70) والشاكلة L للحامض الأميني موجودة ومشروطة لعمل كل من الأنزيمين، وهكذا نجد ثمالة أرجينيل Arginyl في الترسين وثمالة تايروسيل Tyrosyl في ركيزة ألفا-كيموترسين إلا أن هناك عدداً من أنزيمات البروتياز تظهر متطلبات دقيقة بالنسبة لحجم الركيزة كما في البروتيازات الحامضية Acid proteases وسوف تأتي على ذكرها فيما بعد.

إن الاختلاف في تخصص أنزيمات البروتياز المختلفة يعود لطبيعة ثمالات الربط Biniding residues الموجودة في الموقع النشط للأنزيم التي يتم من خلالها ارتباطه بالركيزة.

لو نظرنا إلى الشكل (2-53) وقارنا تسلسل الأحماض الأمينية في منطقة الموقع النشط للأنزيمات ألفا-كيموترسين وإيلاستاز، لوجدنا بأن (جيب الارتباط) pocket Binding يكون مفتوحاً تماماً في ألفا-كيموترسين والترسين لوجود ثمالات كلايسين في الموقع 216 (Gly-216) والموقع 226 (Gly-226) لذا فإن السلاسل الجانبية الكبيرة لثمالات الأحماض الأمينية تلائم هذه الجيوب ويختلف الأنزيمان من حيث أن الترسين يمتلك Asp-189 في أسفل الجيب بينما يحتوي ألفا-كيموترسين على Ser-189. إن الشحنة السالبة لمجموعة كاربوكسيل Asp-189 في الترسين، تؤدي إلى تكوين أصرة كهروستاتية Electrostatic مع الشحنة السالبة لمجموعة إيسلون-امينو Amino-E لثمالة الحامضي الأميني لايسين في الركيزة.



شكل (2- 53) المواقع المفترضة لارتباط الركائز بالانزيمات ألفا - كيموتريسين و تريسين وإيلاستاز Elastase.

إما جيب الارتباط في الأنزيم ايلاستاز Elastase فمختلف تماماً (شكل 2-52)، إذ يمتلئ الجيب بالسلاسل الجانبية الكبيرة لكل من الحامضين Val-216 و 226Thr وبذلك يتلاءم جيب أنزيم الايلاستاز مع السلاسل الجانبية الصغيرة وكمثال $\text{CH}_3 -$ ولهذا السبب يعود تخصص الأنزيم نحو ركائز تحوى الانين.

2-7-8-2 دون أقسام الأنزيمات المحللة للبروتينات، "بروتيازات"

Subdivision of Proteases

يمكن تقسيم الأنزيمات المحللة للبروتينات إلى أربع مجاميع استناداً إلى آلية عملها:

- أ- بروتيازات السرين
- ب- بروتيازات السلفهديريل
- ج- أنزيمات البروتياز الحاوية على المعادن
- د- البروتيازات الحامضية

أ- بروتيازات السرين Serine proteases

الصفات العامة:

تضم بروتيازات السرين أنزيمات العائلة كيموتريسين - and-8، α -chymotrypsin وكذلك الايلاستاز Elastase والثرومبين Thrombin والسبتلزين Subtilisin وأخيراً Lytic protease-x من أنواع السورانجيوم Sorangium sp. تتميز جميع هذه الأنزيمات بإمكانية تثبيطها بالمركب Diisopropylfluorophosphate (DFP) الذي يتفاعل مع مجموعة الهيدروكسيل لثمالة السرين في الموقع النشط للأنزيم. تعد جميع هذه الأنزيمات Endopeptidases لأنها تحلل مائياً أو اصر داخلية في جزيئة الركيزة. تحتوي هذه الأنزيمات في موقعها النشط إضافة إلى لسرين، على ثمالة هستدين أيضاً ويمكن ملاحظة ثمالات الأحماض الأمينية حول ثمالات السرين والهستدين لعدد من الأنزيمات في الجدول (2-15).

جدول ٢-١٥ : تسلسل الأحماض الأمينية حول حالات السريل seryl المستبدل
Histidyl الجوزية في الموقع النشط لعدد من الأنواع

Enzyme	Sequence
Trypsin, bovine	Around Seryl Residue
Trypsin, pig	Asp-Ser-Cys-Gln-Gly-Asp-Ser-Gly-Gly-Pro-Val-Val-Cys-Ser-Asn-Ser-Cys-Gln-Gly-Asp-Ser-Gly-Gly-Pro-Val-Val-Cys-Gly-Ser-Ser-Cys-Met-Gly-Asp-Ser-Gly-Gly-Pro-Leu-Val-Cys-Lys-Ser-Ser-Cys-Met-Gly-Asp-Ser-Gly-Gly-Pro-Leu-Val-Cys-Gln-Ser-Gly-Cys-Gln-Gly-Asp-Ser-Gly-Gly-Pro-Leu-His-Cys-Leu-Asp-Ala-Cys-Gln-Gly-Asp-Ser-Gly-Gly-Pro-Phe-Val-Asp-Ser-Gly-Gly
Chymotrypsin A, bovine	Ala-Thr-Leu-Asn-Gly-Thr-Ser-Met-Ala-Ser-Pro-His-Val-Ala-Pro-Asp-Tyr-Val-Thr-Asp-Ser-Ala-Ala-Ser-Ala-Asx-Leu-Gly-Val-Thr-Ala-Ser-His-Asx-Gly-Glx-Ser-Ala-Gly
Chymotrypsin B, bovine	
Elastase, pig	
Thrombin, bovine	
α -lytic protease, <i>Sordaria</i>	
Subtilisin, <i>B. subtilis</i> carlsberg	
Alkaline phosphatase, <i>E. coli</i>	
Phosphoglucomutase, rabbit	
Trypsin, bovine	Around Histidyl Residue
Chymotrypsin A, bovine	Val-Val-Ser-Ala-Ala-His-Cys-Tyr-Lys-Ser-Gly-Ile-Gln-Val-Val-Thr-Ala-Ala-His-Cys-Gly-Val-Thr-Thr-Ser-Asp-Val-Val-Thr-Ala-Ala-His-Cys-Gly-Val-Thr-Ser-Asp-Val-Met-Thr-Ala-Ala-His-Cys-Val-Asp-Arg-Glu-Leu-Thr-Thr-Ala-Ala-His-Cys
Chymotrypsin B, bovine	
Elastase, pig	
Thrombin, bovine	
α -lytic protease, <i>Sorangium</i>	

ومن الجدير بالملاحظة هو أن للأنزيمات الثلاثة كيموتريسين وتريسين وايلاستاز مصدر مشتركاً وهو البنكرياس كما أن آلية عملها متشابهة. أما البروثرومبين فإنه يوجد في الدم ويتحول إلى الصيغة الفعالة ثرومبين أثناء تخثر الدم.

أما الأنزيمات الميكروبية Subtilisin و α -Lytic protease فإنها مشابهة للكيموتريسين.

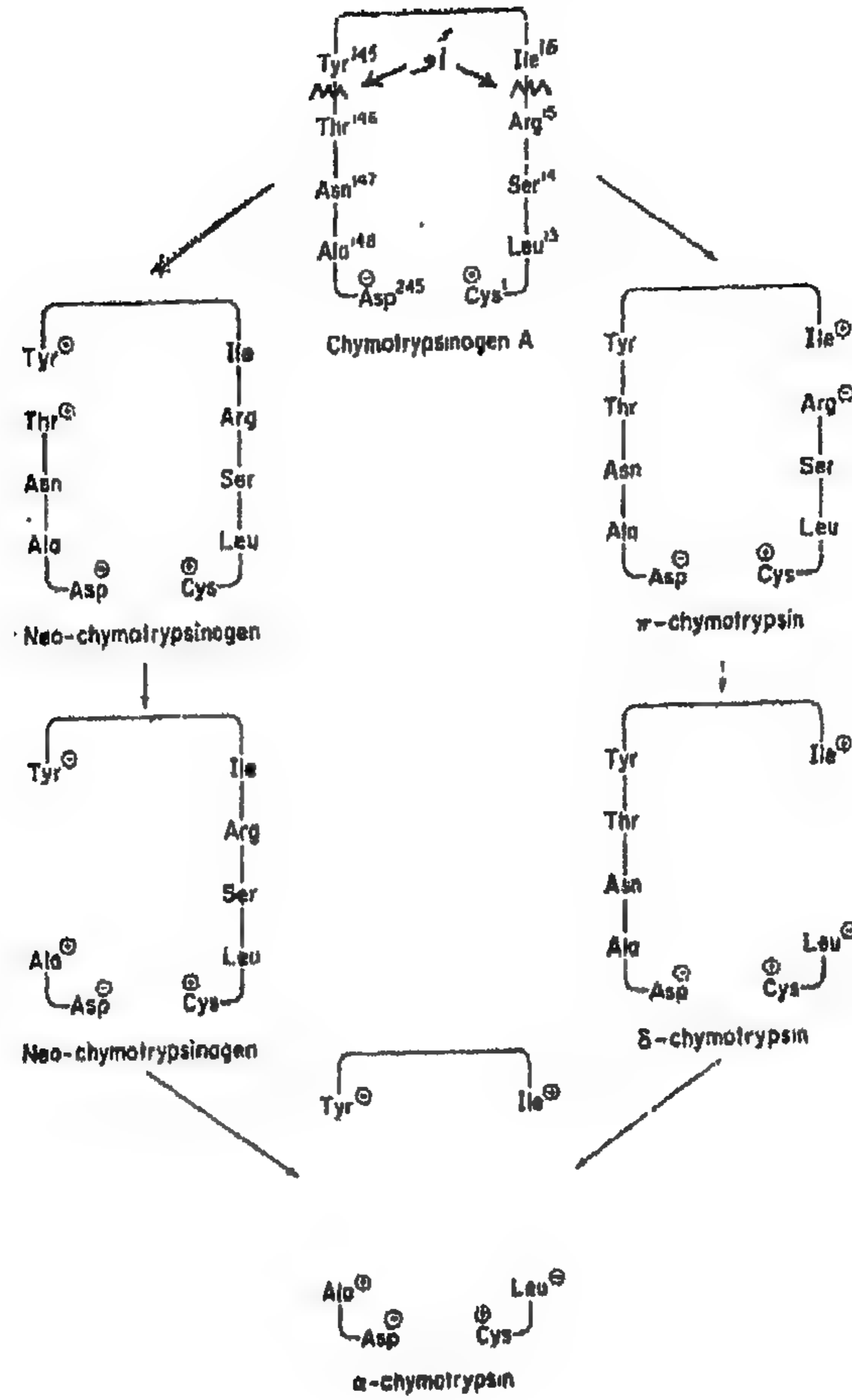
الفا- كيموتريسين α -Chymotrypsin

ينتج بنكرياس الأبقار نوعين من المولدات الأنزيمية zymogens وهي chymotrypsinogen A و chymotrypsinogen B. يختلف هذان المولدان الأنزيميان عن بعضهما في تركيبهما من الأحماض الأمينية مما يؤدي إلى اختلاف نقطة تساوي تكهربهما Isoelectric points فهي 8.5 للكيموتريسينوجين (A) و 4.5 للكيموتريسينوجين (B)، وعند تحولهما إلى الأنزيمين الفعالين الفا- كيموتريسين وبيتا- كيموتريسين، يتم اقتطاع بعض الأجزاء الببتيدية إلا أن بعض الاختلافات تبقى في الخصائص الفيزيائية، أما شروط تخصصهما فهي واحدة.

ينتج بنكرياس الخنزير إضافة إلى كيموتريسينوجين (A) و (B)، مولداً أنزيمياً آخر وهو chymotrypsinogen C ويكون تنشيطه بواسطة التريسين إلى الكيموتريسين C. يتخصص الكيموتريسين C تجاه السلسلة الجانبية Leucyl على خلاف الفا- وبيتا- كيموتريسين المتخصصين تجاه الأحماض الأمينية الأروماتية.

يمكن توضيح تحول كيموتربسينوجين A إلى الفا- كيموتربسين في الشكل (2-54). يتكون الكيموتربسينوجين A من سلسلة ببتيديّة واحدة بوزن جزيئي 25.000. تحتوي هذه السلسلة على 245 حامض أميني وخمس أواصر ثنائية الكبريتيد.

إن تحول الكيموتربسينوجين A إلى الفا- كيموتربسين، عملية مقعدة على الرغم من أن تحليل آصرة ببتيديّة واحدة قد يؤدي إلى تنشيط الأنزيم. فعند معاملة كيموتربسينوجين A بأنزيم التربسين، تتحلل الآصرة بين ثمالي Arg-15 و Ile-16 وينتج عن ذلك تغيرات في الهيئة الأنزيمية مؤدية إلى وضع كل من الحامضين الأمينيين Ser-195 و His-57 في الموقع النشط لتكوين π -chymotrypsin الذي يكون تام الفعالية. يتكون π -chymotrypsin من سلسلتين ببتيديتين مرتبطتين بأواصر ثنائية الكبريتيد (شكل 2-54).



شكل (2- 54) مخطط يوضح تحول الكيموتريسينوجين A إلى باي ودلتا وألفا- كيموتريسين α and δ Chymotrypsin - TT لاحظ ضرورة التحلل المائي للأصرة الببتيدية بين ثمالي Arg-15 و Ile-16 بواسطة البريسين لتنشيط المولد الانزيمي كيموتريسينوكجين. يعمل الدلتا - كيموتريسين δ -Chymotrypsin على تحول كيموتريسينوجين A إلى نوعيم من المولد الانزيمي غير الفعال Neo-Chymotrypsinogen.

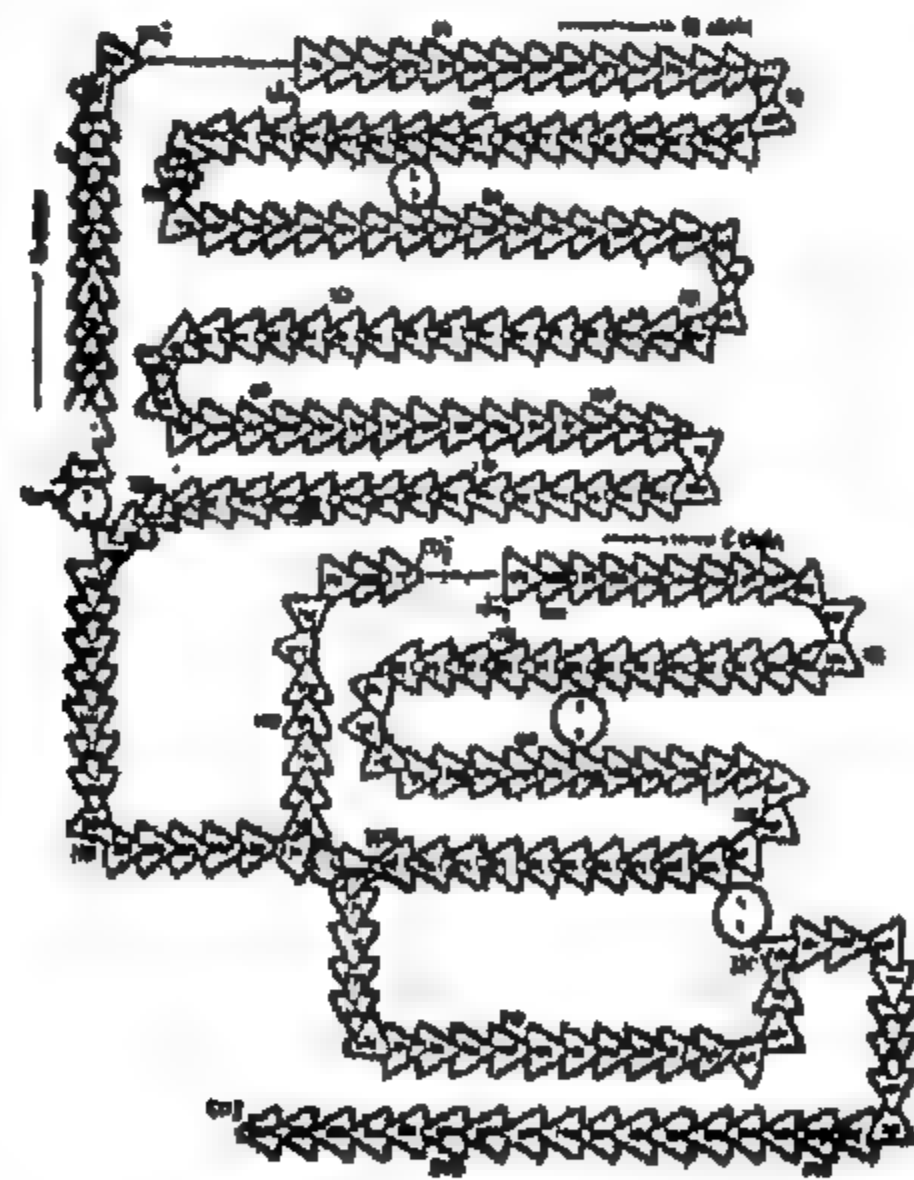
يتحول TT-Chymotrypsin إلى δ -Chymotrypsin بتحلل الأصرة الببتيدية ذاتيا بين Leu-13 و Arg-15 (شكل 2-54). يحتوي δ -Chymotrypsin

إذن على جميع الأحماض الأمينية الموجودة في المولد الأنزيمي كيموتريسينوجين (A) باستثناء الأرجنين والسرين ويتكون من سلسلتين بيتيديتين.

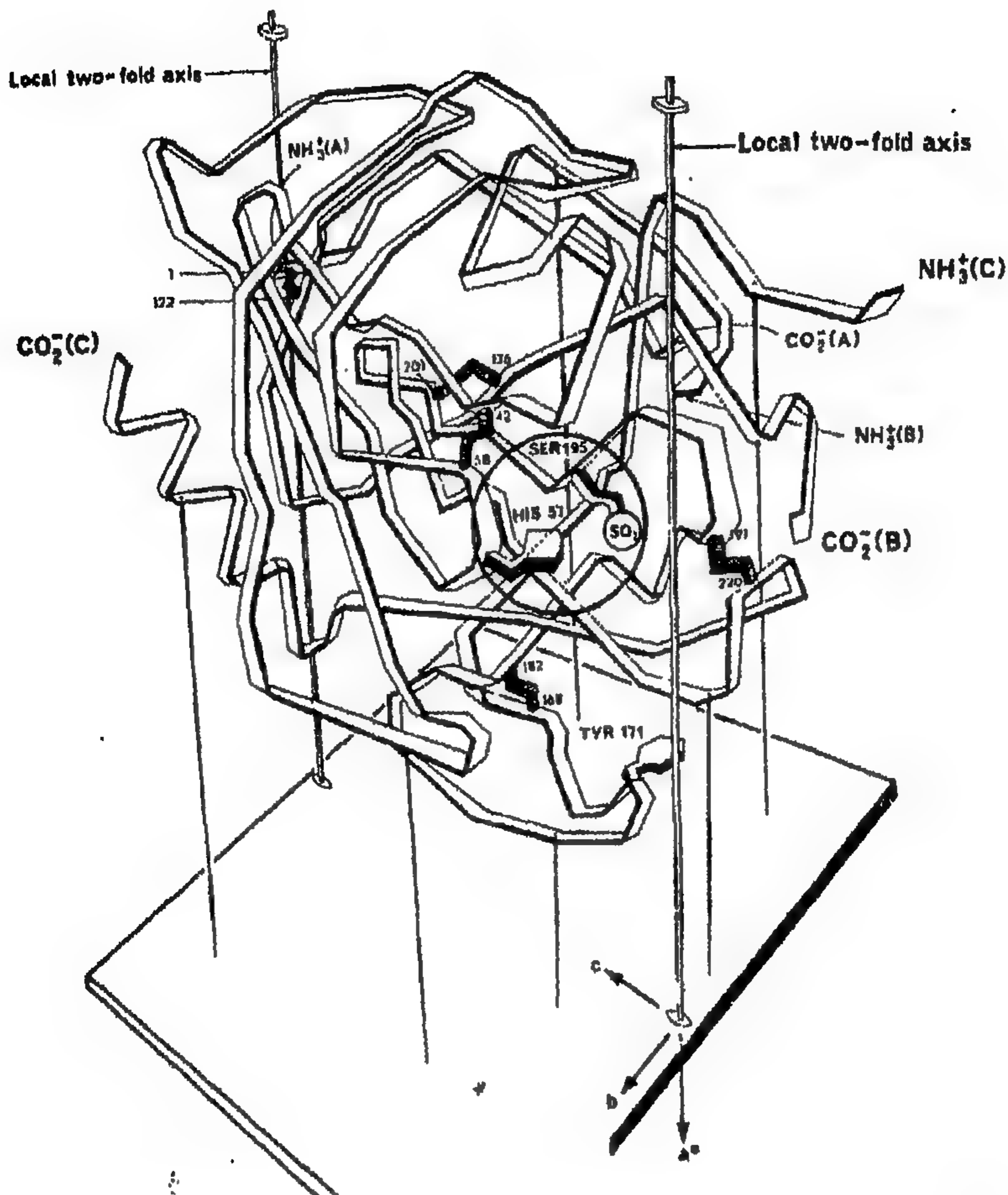
يستمر التحلل الذاتي Autolysis للدلتا δ كيموتريسين وتتشطر الأصرتان Tyr-145-Thr-146 و Asn-147-Ala-148 وبذلك يتحرر الببتيد الثنائي Thr-146-Asn-147 ويتكون بذلك الألفا- كيموتريسين وهو أكثر الكيموتريسينات استقرارا. يتكون الفا-كيموتريسين من ثلاث سلاسل بيتيدية يتصل بعضها ببعض بواسطة أوامر ثنائية الكبريتيد بينية Interchain disulfide bonds.

يمكن للكيموتريسينوجين A (شكل 2-54) أن يتحول إلى نوعين من المولد الأنزيمي غير النشط Neo-Chymotrypsinogen بالفعل التحفيزي للدلتا- كيموتريسين.

يوضح الشكل (2-55) تسلسل الأحماض الأمينية في الألفا- كيموتريسين امكن تعيين التركيب ثلاثي الأبعاد للألفا- كيموتريسين بطريقة X-ray Crystallography وهي كما في الشكل (2-56).



شكل (2-55) تسلسل الأحماض الأمينية في الألفا- كيموتريسين. الترقيم المستخدم يعود للمولد الأنزيمي كيموتريسينوجين A. ان الانقطاع بين الثمالات 13-16 و 146-149 يعود لاقطاع زوج من ثنائي الببتيد عند التنشيط.



شكل (2- 56) مخطط مصرو يمثل هيئة السلاسل الثلاث A و B و C لعديد من الببتييد لانزيم الفا - كيموتريسين. لاحظ مواقع الجسور ثنائية الكبريتيد بين أزواج الثمالات الاتية 1- 122 ، 136 - 201 ، 42 - 58 ، 168 - 182 و 0191 - 220 يتضح في الصور موقع النهايات الأمينية والكربوكسيلية وكذلك الثمالات Tyr 171 ، His- 57.

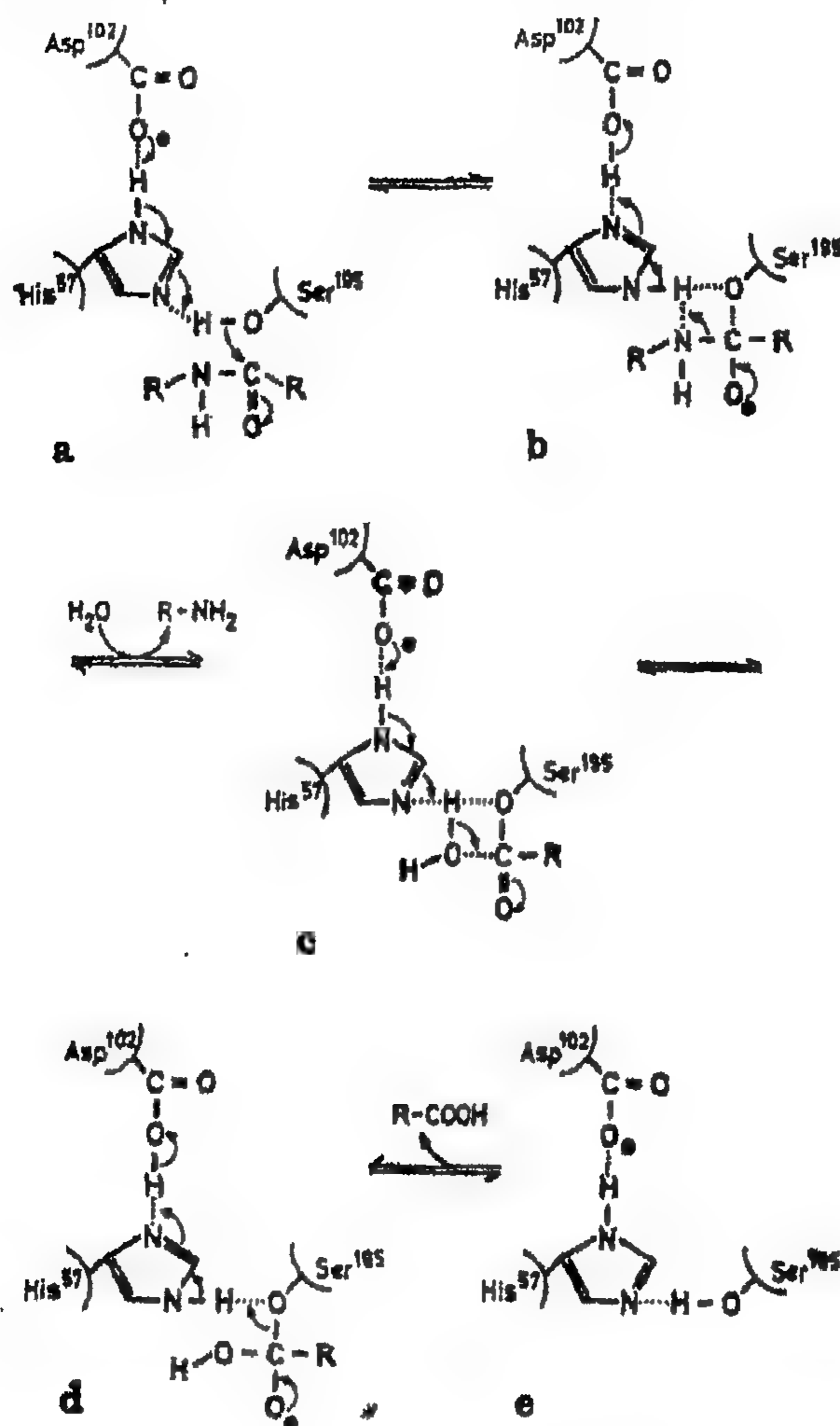
يتضح من الشكل بأن جميع النهايات الكربوكسيلية والأمينية الناتجة من تحول الكيموتريسينوجين A إلى ألفا - كيموتريسين واقعة في الجهة اليمنى من الصورة. وتحتوي السلاسل A و B و C على 13 و 130 و 98 ثمالة حامض اميني على التوالي.

آلية عمل الكيموتريبسين:

يعتمد نشاط الأنزيم على His-57 و Ser-195 (شكل 2-56) إذ يقتربان من بعضهما في الموقع النشط للأنزيم نتيجة لإلتواء السلسلة الببتيدية. إن Asp-102 الذي يوجد في محيط كارة للماء (هدروفوبي) يستطيع نتيجة لتموضعه هذا أن يستقطب مجاميع فعالة أخرى. أما His-57 فهو قاعدة قوية يستطيع سحب بروتون من مجموعة الهيدروكسيل العائدة إلى ثمالة Ser-195 كما في الشكل (2-57-أ) ثم إن الهجوم النيوكليوفيلي لثمالة Ser-195 على كربون مجموعة الكربونيل للأصرة الببتيدية في الركيزة، يؤدي إلى تحرير الأمين شكل (2-57-ب) وتكوين معقد أسيل-الأنزيم Acyl-enzyme إن هذا المركب الوسطي غير ثابت (وإلا لما حصل التفاعل بسرعة واضحة) تؤدي ثمالة His-57 وبمساعدة Asp-102 إزالة مجموعة الأسيل، بسحب بروتون من الماء وبذلك تهاجم مجموعة الهيدروكسيل الناتجة OH-هجومًا نيوكليوفيليا Neolecophilic attack مجموعة الكاربونيل لمعقد أسيل-الأنزيم (شكل 2-57-ج) وأخيرا مما تقدم بأن His-57 يعمل مرة بوصفه حامضًا عامًا General acid Catalyst في خطوة إزالة الأسيل. إن سهولة حدوث الخطوة الأخيرة هذه تتم بتكوين أصرة هيدروجينية بين الهستيدين و Asp-102 (انظر 2-57-د). ومن الجدير بالذكر أن جميع هذه التحولات تتم دون حركة أية مجموعة من المجاميع الفعالة في الأنزيم.

ب- بروتيازات السلفهيدريل Sulfhydryl Proteases

لهذه المجموعة من الأنزيمات القابلية على تحليل الأواصر الببتيدية للبروتينات ويمكن تشبيطها بالكواشف المثبطة لمجموعة السلفهيدريل. وتضم هذه المجموعة أنزيمات النباتات الزهرية مثل الأنزيمات Papain و Ficin و Bromelain وأنزيمات الأحياء المجهرية مثل Streptococcus -proteases. يوضح الجدول 2-16 تسلسل الأحماض الأمينية حول الستئين والهستيدين لعدد من بروتيازات السلفهيدريل.



شكل (2- 57) الآلية المقترحة لتفاعل محفز بانزيم كيموتريسين.

تدل الدراسات المختلفة للأنزيم Fapain (البابايا Papaya) والأنزيم Ficin من التين Fig والأنزيم بروميلين bromelain من الأناس pineapple على أن الرقم الهيدروجيني الأمثل لعملها واسع المدى ويقع بين 6 و 7.5. وتكون هذه الأنزيمات أيضاً مقاومة لدرجات الحرارة العالية (60-80°م) في الرقم الهيدروجيني المتعادل، وتظهر تخصصاً واسعاً للركيزة. يحلل كل من الـ Papain والـ Ficin الركائز الحاوية على Arginine-1 و Glycine L-Lysine و L-Citrulline بنفس الكفاءة تقريباً.

جدول ٢ - ١٩ تسلسل الأحماض الأمينية حول جميع الاميدازوك (ثلاثة المستعدين)
والسلفهيدريل (ثلاثة المستعدين) الجوهريه لعدد من بروتينات السلفهيدريل

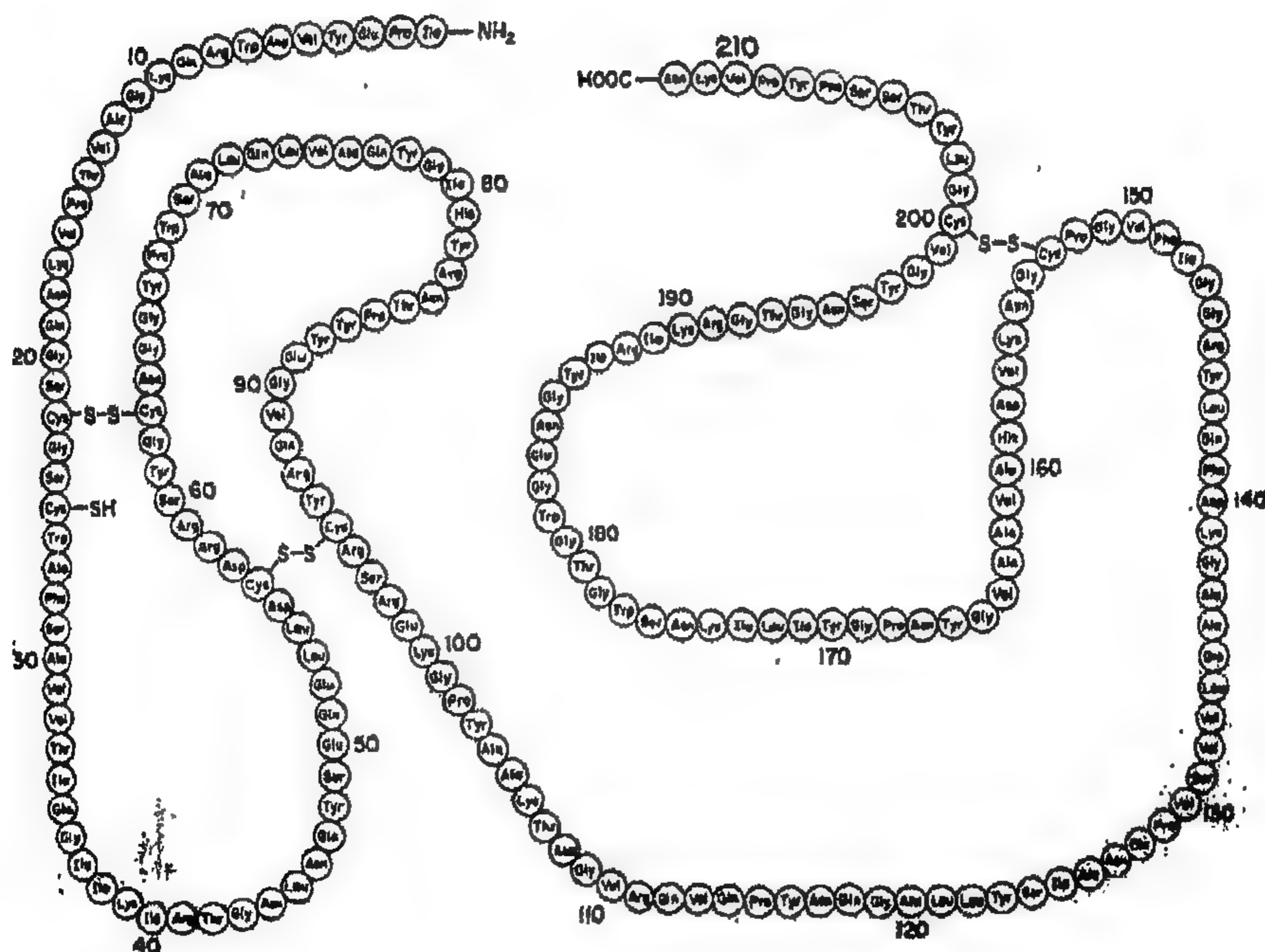
Proteases

الانزيم

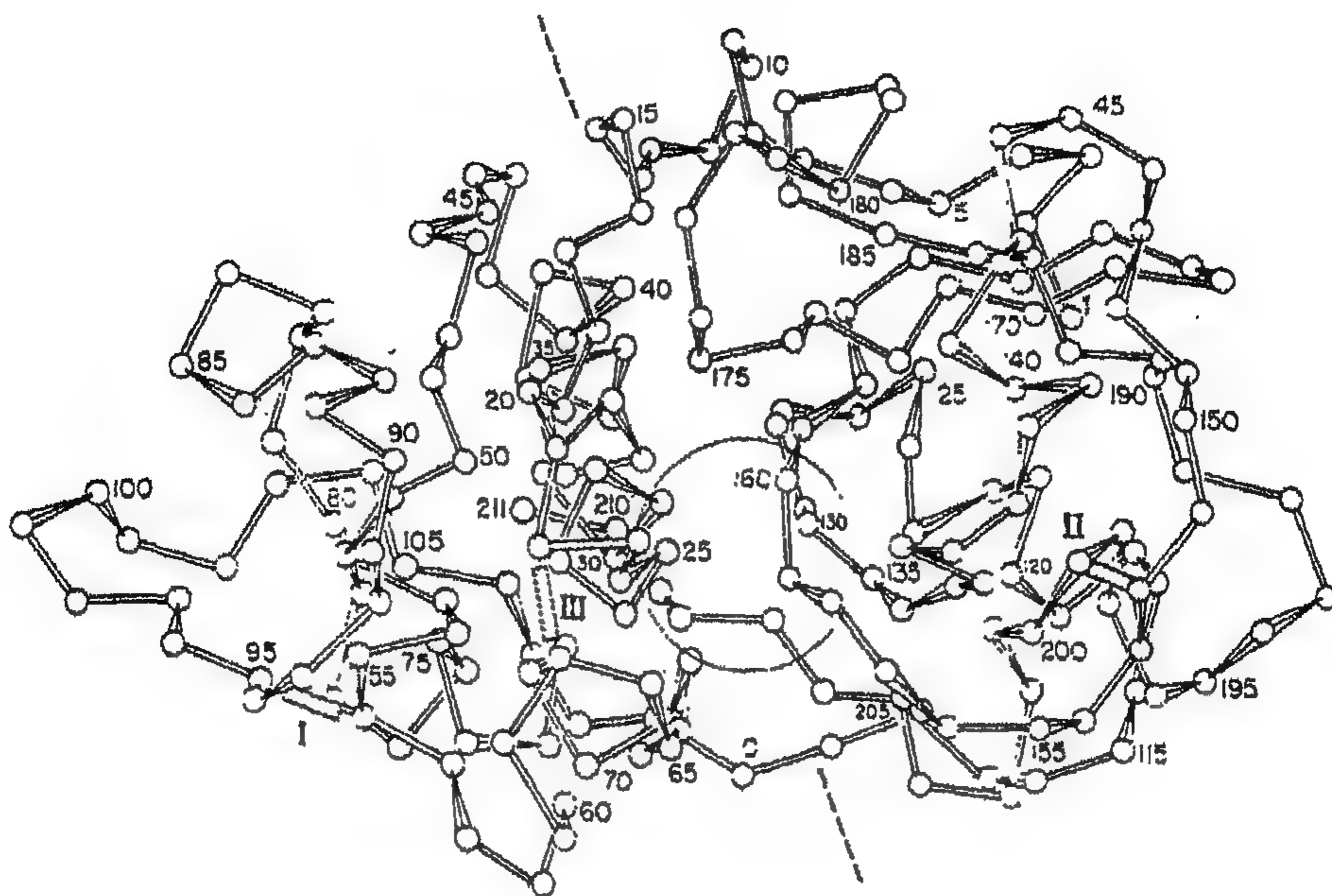
تسلسل الأحماض الأمينية

Bromelain, stem	Asn-Gln-Asp-Pro-Cys-Gly-Ala-Cys*-Trp
Papain	Pro-Val-Lys-Asn-Gln-Gly-Ser-Cys-Gly-Ser-Cys*-Trp
Ficin	Pro-Ile-Arg-Gln-Gln-Gly-Gln-Cys-Gly-Ser-Cys*-Trp
Proteinase, streptococcal	Ser-Phe-Val-Gly-Gln-Ala-Ala-Thr-Gly-His-Cys*-Val
Bromelain, stem	His*-Ala-Val-Thr-Ala-Ile-Gly-Tyr
Papain	Val-Gly-Pro-Cys-Gly-Asn-Lys-Val-Asp-His*-Ala-Val-Ala-Ala-Val-Gly-Tyr
Ficin	Thr-Gly-Pro-Cys-Gly-Thr-Ser-Leu-Asp-His*-Ala-Val-Ala-Leu
Proteinase, streptococcal	Gln-Ala-Ala-Thr-Gly-His*-Cys-Val-Ala-Thr-Ala-Thr

يوضح الشكل 2-58 التسلسل الكامل للأحماض الأمينية في أنزيم البابائين Papain. تتكون السلسلة من 212 حامض أميني ووزنها الجزيئي يقارب 23900. تم توضيح التركيب الثلاثي للأنزيم بواسطة الأشعة السينية (شكل 2-59). إن للجزيئة اخدودا عميقا يمر قطريا في المركز بحيث تبدو الجزيئة الواحدة وكأنها جزيئتان مع العلم بأن ثلاثة فقط من أجزاء السلسلة الببتيدية تمر في هذا الأخدود. كما أن مجموعة السلفهدريل الجوهريّة لثمالة Cys-25 تقع في جهة واحدة من الأخدود (انظر الدائرة في الشكل 2-59). ترتبط الركيزة بتخصص فراغي Stereospecifically في المجاميع الموجودة في الأخدود بحيث تكون الأواصر الببتيدية قيد التحفيز معرضة لمجموعة السلفهدريل وبالقرب منها.



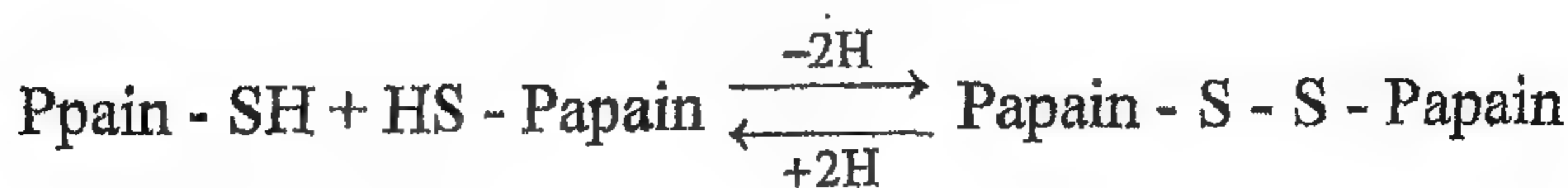
شكل (2- 58) التركيب الأولي لانزيم البابائين



شكل (2- 59) التركيب الثانوي والثالثي لانزيم الباباين > papain

تم الإستدلال عليه باستخدام X-ray Crystallography تمثل الدوائر ذرات الكربون- الفا لثمالات 212 حامض أميني.

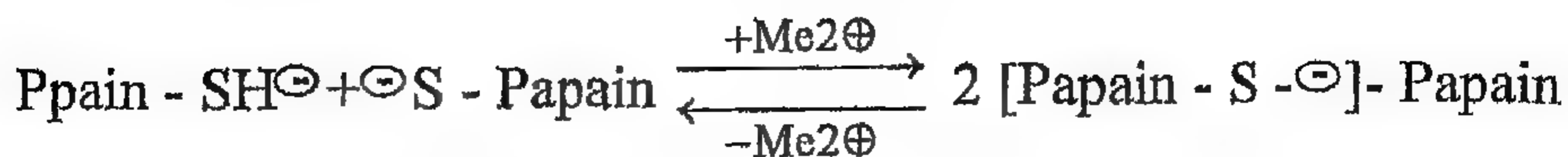
يوجد الباباين والكيموباباين في عصير نبات البطيخ Carica papaya ويمكن تنشيط هذين الأنزيمين بمواد مؤكسدة وبالأيونات الثقيلة مثل Pb^{2+} أو Hg^{2+} أما المركبات سستين Cystein والكلوتاثايون المختزل و HCN فإنها منشطات قوية لهذه الأنزيمات يمكن توضيح تنشيط وتنشيط أنزيمات الباباين والبروملين والفيسين Ficin بالمعادلتين الآتيتين



(71-2000)

نشط أنزيمياً

غير نشط



غير نشط نشط أنزيمياً (72-2000)

ملاحظة Me = معدن Metal

يكون أنزيم البابائين مستقراً عادة في الرقم الهيدروجيني 5.0 إلا أن استقراره تقل في الرقم 3 وبدرجة كبيرة إذا ازداد الرقم الهيدروجيني عن 11. عند مقارنة البابائين بالأنزيمات الأخرى نجده أكثرها استقراراً بالحرارة وهو بذلك من أكثر الأنزيمات المحللة للبروتينات استخداماً وخاصة لتطرية اللحوم Tenderization وتحلل البروتينات. ويضاف للفرض نفسه ولكن بكميات أقل أنزيما Bromelain و Ficin.

يستخلص البروملين Bromelain عادة بوصفه ناتجاً ثانوياً من سيقان نبات الأناناس عند حصاد الأناناس حيث تحجب هذه السيقان بعد قطف فاكهة الأناناس. وتعزل منها الجذور والأوراق. تعصر السيقان وترشح العصارة ثم تستخدم تقنية التجزئة الترسيبية Fractional precipitation بالاستون ويفصل الجزء الغني بالبروملين ويجفف.

أما الأنزيم Ficin فيستخلص عادة بطريقة بزل العصارة من سيقان التين نوع Ficus، ومن هذه العصارة يمكن الحصول على الأنزيم بطريقة التجفيف بالرش (رش العصارة على سطح ساخن) وعندما يراد الحصول على الأنزيم بنقاوة عالية، يمكن ترسيبه بالاستون. يحتوي الأنزيم Ficin الخام المستخرج من عصير التين نوع Ficus على أنزيم البيروكسداز.

ج. أنزيمات البروتياز الحاموية على المعادن "البروتيازات المعدنية"

Metal -Containing Proteolytic enzymes

في حالة البروتيازات المعدنية، تكون الأيونات الفلزية عادة مسهمة في عملية التحفيز. إن هذه الأنزيمات ومن ضمنها الأنزيم المستخلص من البكتريا Clostridium والمسمى Clostridiopeptidase يمكن أن تثبط بالمركبات التي تكون معقدات فلزية وكمثال EDTA أن جميع البروتيازات التابعة لهذه المجموعة هي من نوع Exopeptidase وكمثال A-Peptidyl-L- amino acid Carboxypeptidase B و Ypetidase A hydrolase Carbo peptidyl-L- (Lysine hydrolase) المستخلص من عضلات الفأر، و Carnosinase الذي يعمل على المركب B- Alanyl-L- histidine والمركبات ذات العلاقة Leucine aminopeptidase L- Leuly peptide hydrolase وجميعها تحتاج أيونات Zn^{2+} في عملها.

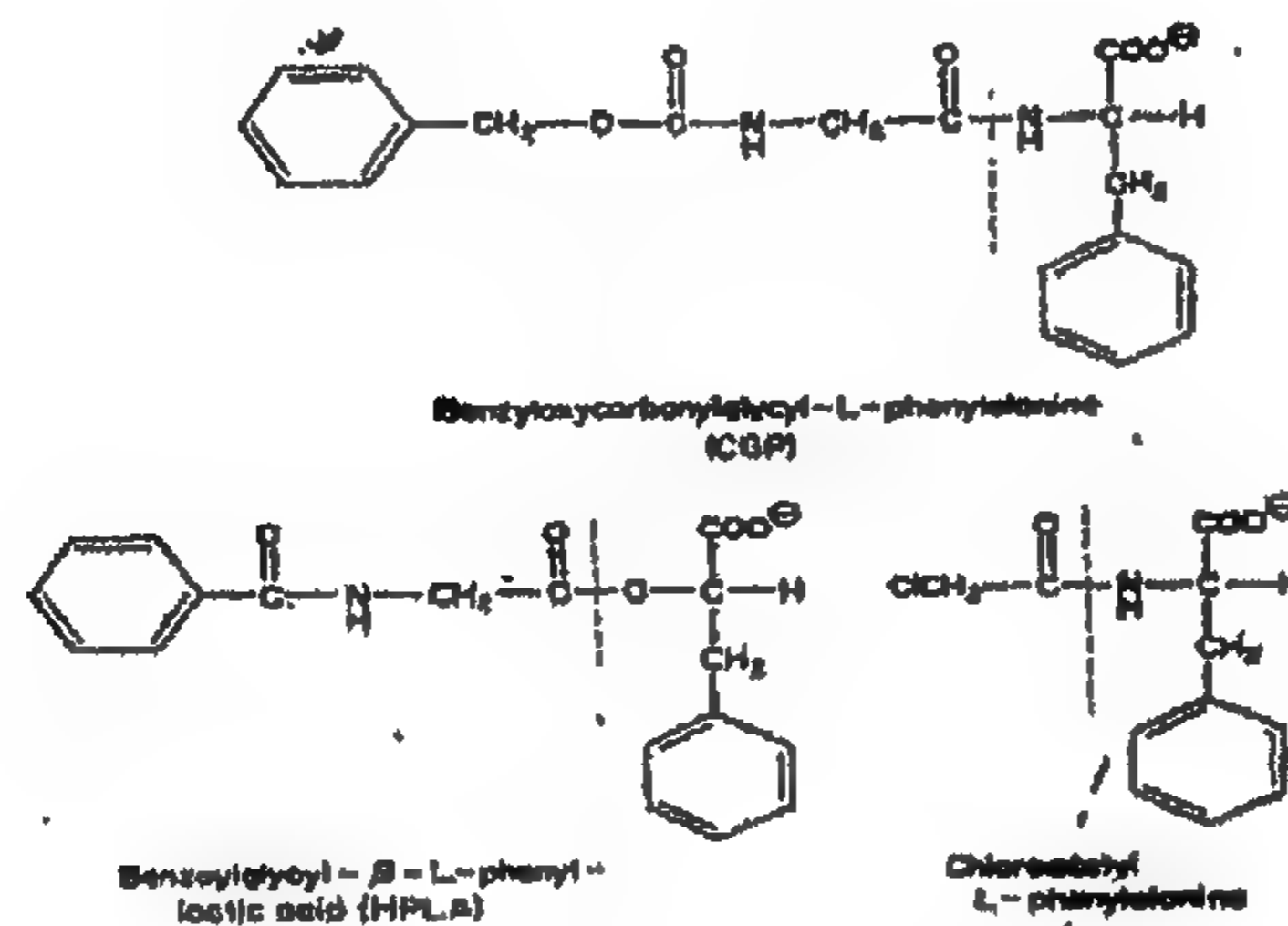
أما amino - acyl - L - proline hydrolase prolidase وهو عبارة عن Dipeptidase، فيحلل مائياً الببتييد الثنائي الذي يكون فيه البرولين أو الهيدروكسي برولين في النهاية الكربوكسيلية. وأما الأنزيم Iminopeptidase فيحلل مائياً الببتييد الثنائي الذي يكون البرولين أو الهيدروكسي برولين فيه في النهاية -N وكلا الأنزيمين يحتاج أيونات Mn^{2+} للتحفيز الأنزيمي.

يفرز سلف الكربوكسي ببتييداز A البقري Procarboxy peptidase A من البنكرياس عادة وله وزن جزيئي يقدر بـ 80000 ويتكون من ثلاث سلاسل لعديد الببتييد ويمكن تنشيطه إلى الكربوكسي ببتييداز A (وزنه الجزيئي 34500) بفعل أنزيم التريسين البنكرياسي الذي يؤثر في مولد أنزيمي آخر ويحوله إلى Carboxypeptidase B يعمل الأنزيمان بصورة عامة بآلية متشابهة وكلاهما يحتاج وجود مجموعة كربوكسيلية حرة في الطرق C- للسلسلة ويحوي الأنزيمات أيونات Zn^{2+} في الموقع النشط ولكنهما يختلفان من حيث

تخصصهما للركيزة حيث أن Carboxy peptidase B يشترط أن تكون ثمالة الحامضي الأميني في الطرف- C ثمالة Arginine أو Lysine بينما تعمل peptidase A Carboxy على البيبتيدات التي تكون ثمالات الحموض الأمينية في طرفها ArginineC أو Lysine أو proline.

يمكن استخدام ركيبتين لتقدير نشاط الأنزيم Carboxy peptidase A

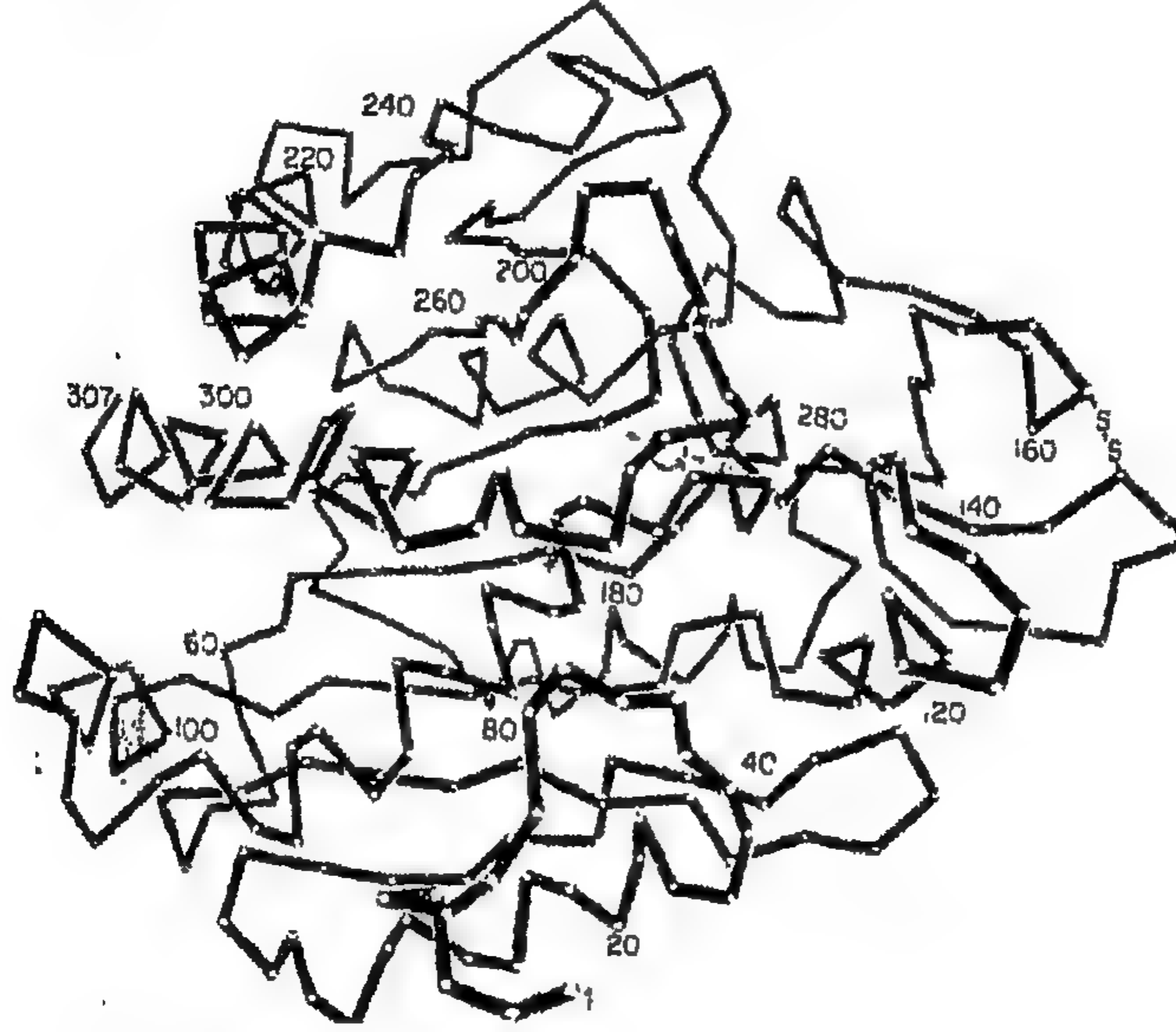
هما Benzoyl و Bezlyoxy carbonylglycyl-L- phenylalanine (CGP) - β - L- phenyllactic acid- (HPLA) وتركيبهما موضح أدناه:



يمكن إزالة Zn^{2+} من الكريوكسي بيبتيداز بعامل مخليبي قوي جدا مثل - 1.15 phenanthroline. إن الأنزيم الخالي من المعدن لا يبدي أي نشاط أنزيمي ولكنه يحتفظ بقدرته على الارتباط بالركيزة. ويمكن استبدال Zn^{2+} بأيونات معدنية ثنائية أخرى مثل CO^{2+} ، Ni^{2+} ، Pb^{2+} وإلى آخره. يكون الأنزيم في هذه الحالة نشطا إلا أن نسبة النشاط بوجود HPLA أو CGP غير ما هي عليه للأنزيم الفطري الحاوي Zn^{2+} هناك من المعلومات ما يفيد أن الكريوكسي بيبتيداز A يحوي في الموقع النشط على ثمالة أو ثمالاتي تيروسيل Tyrosyl و ثمالة أميد ازول Imidazol. إن ما يؤكد وجود الإמידازول في الموقع النشط هو البيانات الحركية kinetic data التي توضح وجود مجموعة ذات PK تتراوح بين 6.5 و 7.65 تلعب دوراً في نشاط الأنزيم.

تحتوي سلسلة الأحماض الأمينية الكاملة لأنزيم كربوكسي بيتيداز A البقري على 300 أو 305 أو 307 ثمانية حامض أميني وتشكل بذلك الصيغ الأنزيمية Y أو B أو X على التوالي.

يمكن تحديد التركيب الثلاثي للأنزيم بحيود الأشعة السينية (شكل 2-60):

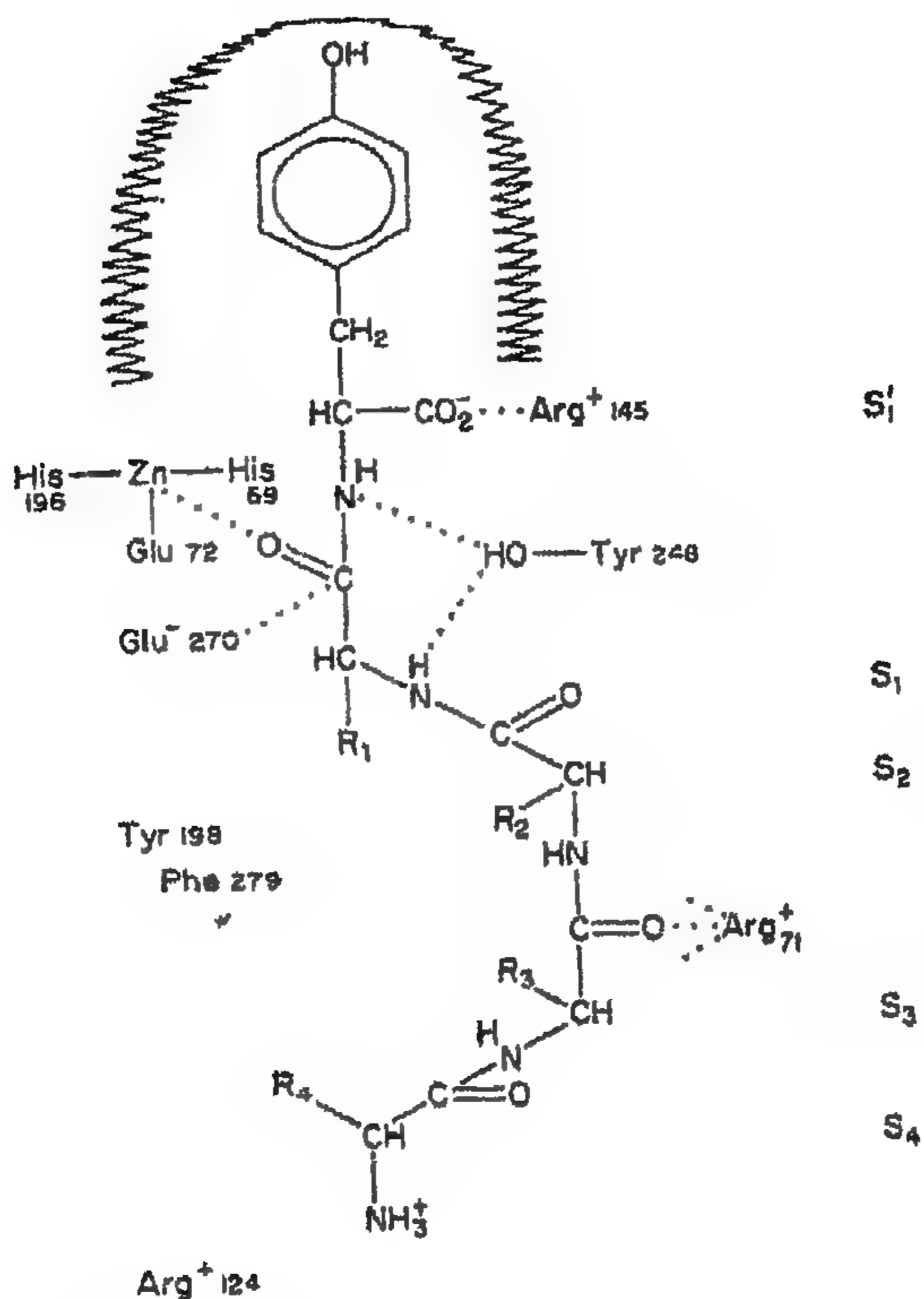


شكل (2-60) التركيب الثانوي والثلاثي للكربوكسي بيتيداز A في ضوء دراسات حيود الأشعة السينية. تشمل الدوائر الكربون - ألفا لثمانيات 307 حامض أميني. الموقع النشط محدد بدائرة في قلب الجزيئة.

تتكون الجزيئة الأنزيمية من سلسلة بيتيدية واحدة وتشكل ثمانية الاليل Ala والإسبارجنيل Asn النهايتين N و C على التوالي.

إن المنطقة المحيطة بالموقع النشط للأنزيم ليست اخدودا كما في حالة الأنزيم Papain ولكنها تبدو بمثابة حجرة (Hole) في الأنزيم ويفترض بأن المجموعة الجانبية R لثمانية الحمض في النهاية الكربوكسيلية للركزية تبرز في هذه الحجرة.

يوضح الشكل (2-61) صورة جانبية للحجرة الهدروفوبية للأنزيم



شكل (2- 61) ارتباط الركيزة في الموقع النشط للإنزيم Carboxy Peptidase

مجاميع NH و CO للأصرة الببتيدية المعرضة لفعل الإنزيم، تقع في مستوى عمودي على الرسم.

يظهر في الشكل (2-61) ارتباط السلسلة الجانبية الهيدروفوبية للحامض الأميني في الطرف C للركيزة. هناك عدة نقاط ارتباط أخرى بسطح الأنزيم ومنها الأصرة الكهرستاتية بين الشحنة السالبة للمجموعة الكربوكسيلية للركيزة والشحنة الموجبة للحامض الأميني أرجنين-145 Arg-145 للأنزيم وكذلك الأواصر الهيدروجينية بين مجموعتي NH لأصرتين ببتيديتين في الأنزيم (أحدهما معرضة والأخرى غير معرضة للهجوم الأنزيمي) وتيروسين-248 Tyr-248 للأنزيم. إضافة لذلك تنشأ أواصر ثنائية الاستقطاب بين Zn^{2+} وأوكسجين مجموعة الكريونيل للأصرة المعرضة لفعل

الأنزيم وبين Glu-270 للأنزيم وكربون مجموعة الكربونيل للأصرة ذاتها المعرضة للفعالية التحفيزية للأنزيم.

يكون أيون الزنك اصرة تناسقية مع His-196 و His-69 و Glu-72 وتبعاً لطبيعة وحجم الركيزة، يستطيع الزنك كذلك التأثير مع Ag-71، Tyr-198 و phe-279.

د. البروتيازات الحمضية Acid Proteases

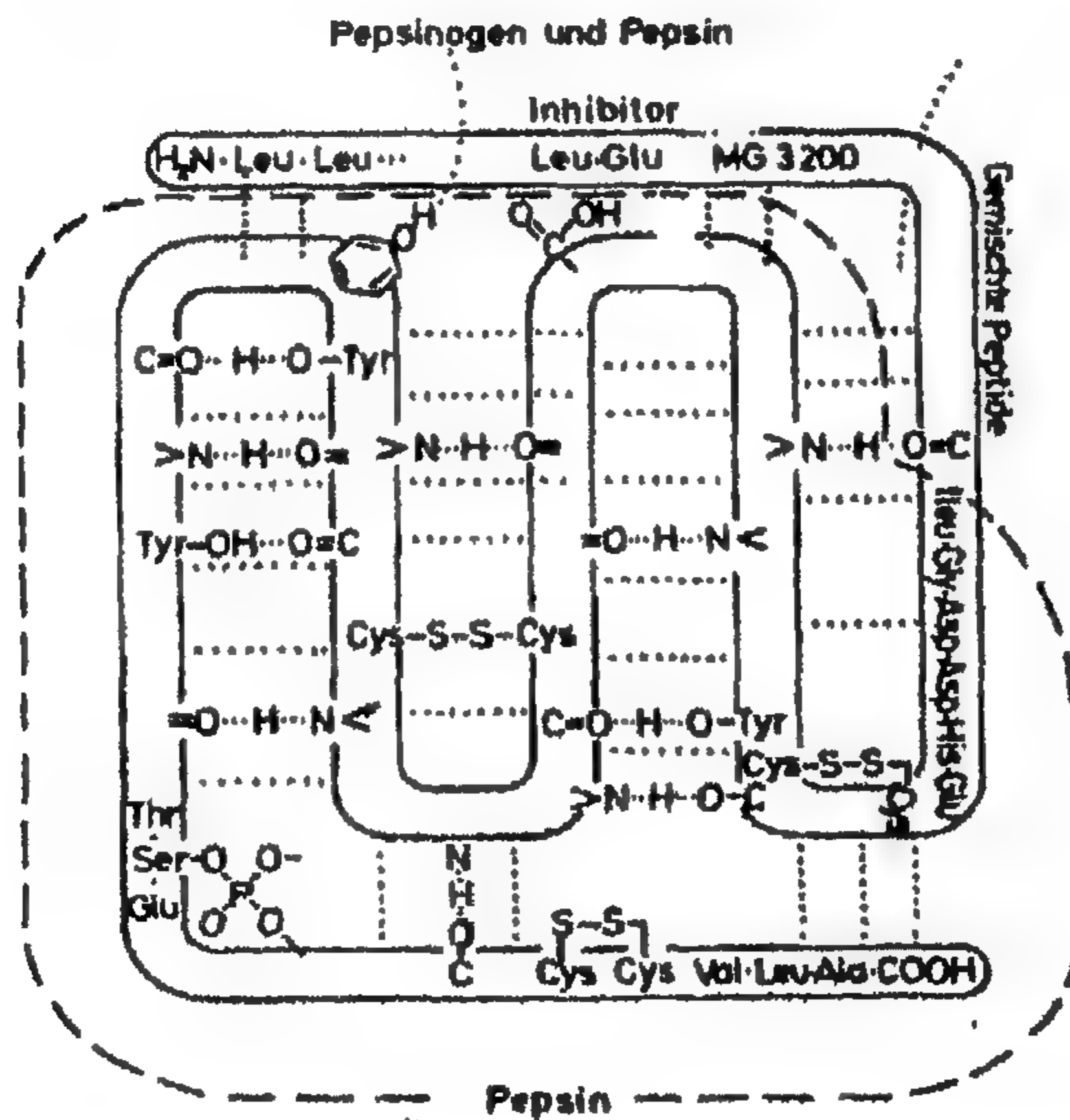
توضح التسمية بأن الرقم الهيدروجيني الأمثل لأنزيمات هذه المجموعة يكون واطئاً ولا تشير إلى المجاميع الفعالة في الموقع النشط. يتراوح الرقم الهيدروجيني الأمثل لهذه الأنزيمات بين (2) كما في الببسين و4 للأنزيمات الأخرى وتوضح سيماء فعالية الأنزيم في الأرقام الهيدروجينية المختلفة PH- Activity Profile وجود مجموعة كربوكسيلية أو أكثر في الموقع النشط للأنزيم. لقد تمت أفضل الدراسات على أنزيم الببسين. ويعد أنزيم الرنين Rennin أكثر أنزيمات هذه المجموعة فائدة على النطاق التجاري لاستعمالاته الواسعة في صناعة الأجبان. ينتمي إلى هذه المجموعة من الأنزيمات، عدد كبير من البروتيازات الموجودة في الأحياء المجهرية إلا أن الدراسات عنها قليلة جداً.

هناك نوعان من أنزيمات البروتياز في الفطرو Endothia Parasitica و Mucor Pusillus ويمكن أن يكونا بديلين جديدين للرنين.

يعد أنزيم الرنين الأنزيم الرئيسي للمعدة الرابعة للعجل الرضعية ويفرز عادة بشكل مولد أنزيمي Zymogen ويسمى في هذه الحالة Prorennin وعندما يتقدم العجل في السن ويتبدل غذاؤه من الحليب إلى الحشائش والحبوب، تقل كمية الرنين المنتجة في المعدة وتزداد كمية الببسين.

الرقم الهيدروجيني الأمثل لنشاط الرنين في البروتينات 3.5 ولكن عند تخثر الحليب يكون الرقم الهيدروجيني للمحيط عادة 5.5-6.5. لم يدرس تخصص الرنين للركيزة بصورة تفصيلية إلا أنه يعتقد بكونه مشابهاً لأنزيم الببسين. ويكون الرنين مستقرًا جدًا في الرقم الهيدروجيني 5.0 ولكن في الرقم 3.5 يبدأ بالتحلل ذاتيًا Autolysis ويتمسخ في PH أعلى من 6 بصورة سريعة. الوزن الجزيئي للرنين (30000).

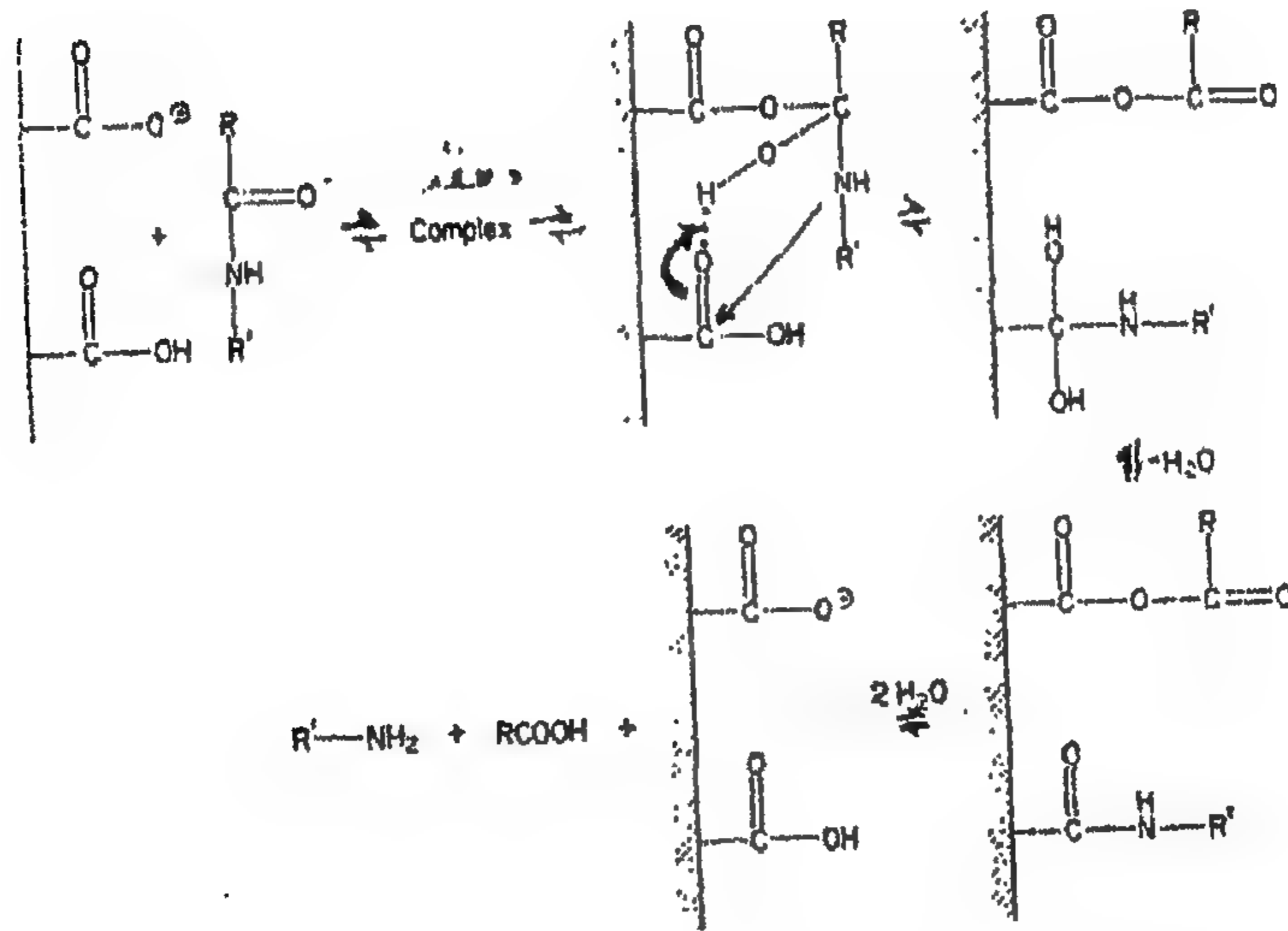
يفرز الببسنوجين (وزنه الجزيئي 42000) من الخلايا الرئيسية المخاطية للمعدة Chief cells of the mucosa ويتحول إلى Pepsin (وزنه الجزيئي 35000) بعملية ذاتية التحفيز بوجود تركيز عالٍ لحمض HCL في المعدة (حوالي 0.01 مولار)، إذ تشطر عدة ببتيدات من المولد الأنزيمي (شكل 2-62).



شكل (2-62) تحول الببسنوجين إلى ببسين.

تدل الدراسات الحركية على الركائز المحضرة مختبريا بأن سيماء
الفعالية الأنزيمية في الأرقام الهيدروجينية المختلفة PH- activity Profile يعتمد
على قيم PK مقدارها حوالي 2 وحوالي 5 كما أن الأنزيم يثبط بمركبات
الديازو Diazo التي تتفاعل مع مجاميع الكربوكسيل، ومن هذه الدراسات
استدل على أن مجموعتي الكربوكسيل توجدان في الموقع النشط للأنزيم.

يوضح الشكل (2-63) الآلية المقترحة للفعالية التحفيزية للأنزيم الببسين.
يتضح من الشكل بأن للأنزيم مجموعتي كربوكسيل أحدهما مبرتنة والأخرى
بشكل أيوني وكلاهما في الموقع النشط. يتكون معقد أنزيم- ركيزة امتزاجي
Adsorptive ويتبع ذلك هجوم نيوكليوفيلي لمجموعة الكربوكسيل على
مجموعة الكربونيل للأصرة الببتيدية. إن هذا يؤدي إلى تكوين مركب وسطي
تساهمي.



شكل (2- 63) الآلية المقترحة للفعالية التحفيزية للأنزيم الببسين.

يعمل الأوكسجين الكربونيلي للكربوكسيلات المبرتنة لإستخلاص
البروتون من مجموعة الهيدروكسيل مسهلا بذلك الهجوم الإلكتروفيلي للكربون

الفصل الثاني

الكربونيلي على مجموعة NH للأصرة البيبتيدية. وبالنتيجة يتكون مركب وسطي وهو امينواسيل- الأنزيم وهذا يتفاعل بدوره مع الماء لإعطاء نواتج التفاعل. يمكن توضيح التخصص النسبي لكل من الببسين والرنين في الإنسولين المؤكسد بالشكل (2-64). يتضح من الشكل تماثل العديد من مواقع هجوم الببسين والرنين.

ومن الأهمية بمكان أن يذكر اجمالاً وجود تفضيل بارز لتحلل بعض الأواصر من قبل أنزيم معين وهذه نتيجة حتمية لاختلاف المجاميع الفعالة في الموقع النشط للأنزيم كما مبين في الجدول (2-17).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
NH ₂		H ₂ N					SO ₃ H													SO ₃ H										
Phe	Vc	As	P	Glu	His	Leu	Cys	Gly	Ser	His	Leu	Vol	Glu	Alc	Leu	Tye	Leu	Vol	Cys	gly	Glu	Arg	Gly	Phe	Phe	Tye	Thr	Pro	Lys	Alo
↑				↑								↑	↑	↑			↑						↑	↑	↑					
P				P								P	P	P			P						P	P		P				
R												R	R	R			R						R	R		R				

شكل 2-64 تخصص الببسين (P) والرنين (R) لتحلل المائي للأواصر البيبتيدية في الإنسولين المؤكسد. تمثل الحروف الكبيرة الحلمة (التحلل المائي) السريعة والحروف الصغيرة الحلمة البطيئة.

جدول 2-17 بعض خصائص البروتيازات

اسم الأنزيم	المركز النشط	مصدر الأنزيم	PH المثالي	التخصص
Trypsin	Se..His	الأمعاء الدقيقة	7.5-8.5	Ag, lys
Papain	SH	ثمار البابايا	5	Arg Lys , leu Giy
Pepsin	COOH	المعدة الرابعة	1.3-3	Tyr Phe k-Casein

التخصص	PH المثالي	مصدر الأنزيم	المركز النشط	اسم الأنزيم
		للعجول	COOH	Rennin
Leu, phe	6-10	البكتريا	Zn ²⁺	Thermolysin

↓Amino acid: يعني كسر الرابطة في النهاية الكربوكسيلية

↓Amino acid: يعني كسر الرابطة في النهاية الأمينية

↓Amino acid: يعني كسر الرابطة في النهاية الكربوكسيلية

2-8-3 قياس فعالية البروتيازات

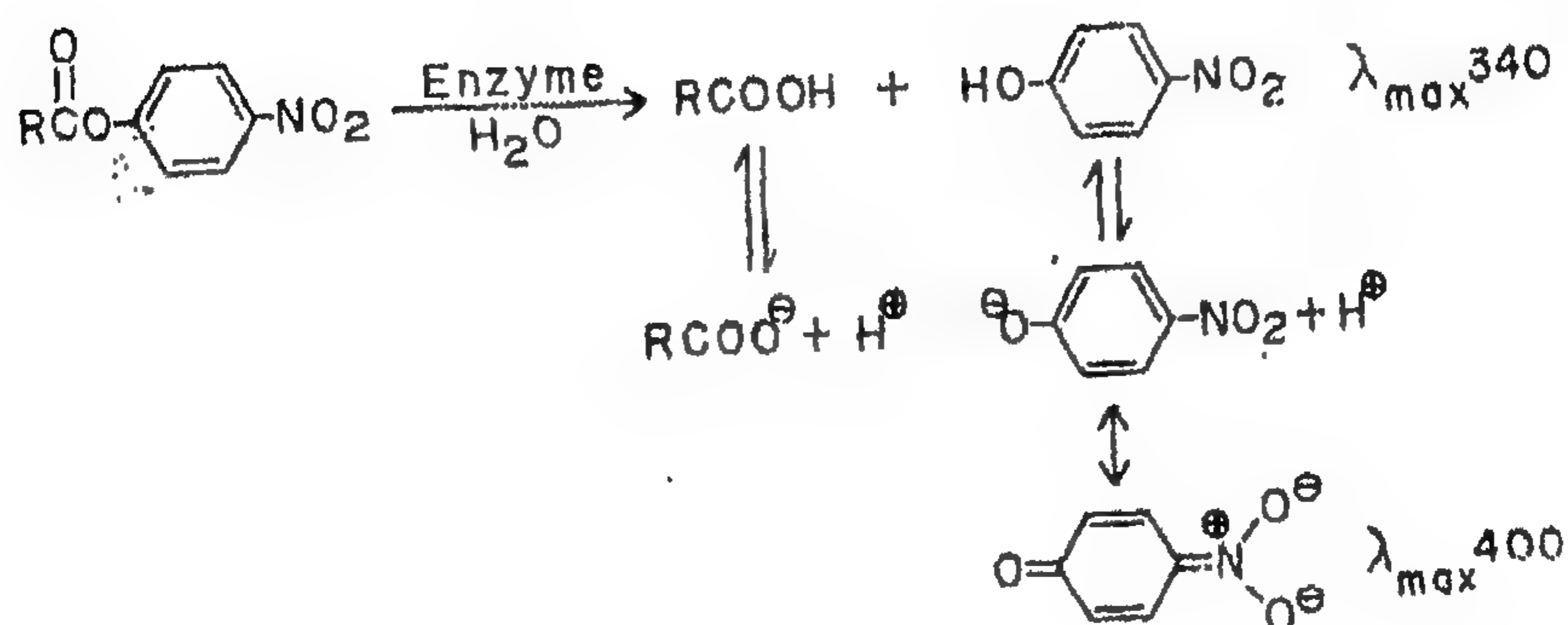
هناك عدة طرق لقياس الفعالية الأنزيمية ويستخدم لهذا الغرض ركائز محضرة مختبرياً أو تروتينات طبيعية.

أ. استخدام البروتينات بوصفها ركائز للبروتيازات

من الطرق واسعة الانتشار، تغير قابلية وذوبان البروتين في ثلاثي كلور حامض الخليك Trichloroacetic acid (TCA) بعد تعرضه لفعل البروتياز. ومن البروتينات المستعملة لهذا الغرض: الكازين Casein والهيموكلوبين المتمسخ Denatured بالحامض أو باليوريا. فعندما يعمل الأنزيم على البروتين، تتناسب كمية الببتيد الذائب في TCA طردياً مع كمية الأنزيم وزمن الحضان معه ويمكن تقدير كمية الناتج بقياس امتصاصية الرائق عند الطول الموجي 280 نانوميتر أو باستعمال تقاعلات لونية للتيروسين أو للأواصر الببتيدية للببتيدات الذائبة يمكن تقدير عدد الأواصر الببتيدية باستعمال كاشف نهدرين Ninhydrin الذي يتفاعل كمياً مع المجاميع الأمينية الحرة ليعطي لوناً أرجوانياً ذو امتصاصية قصوى في 570 نانوميتر.

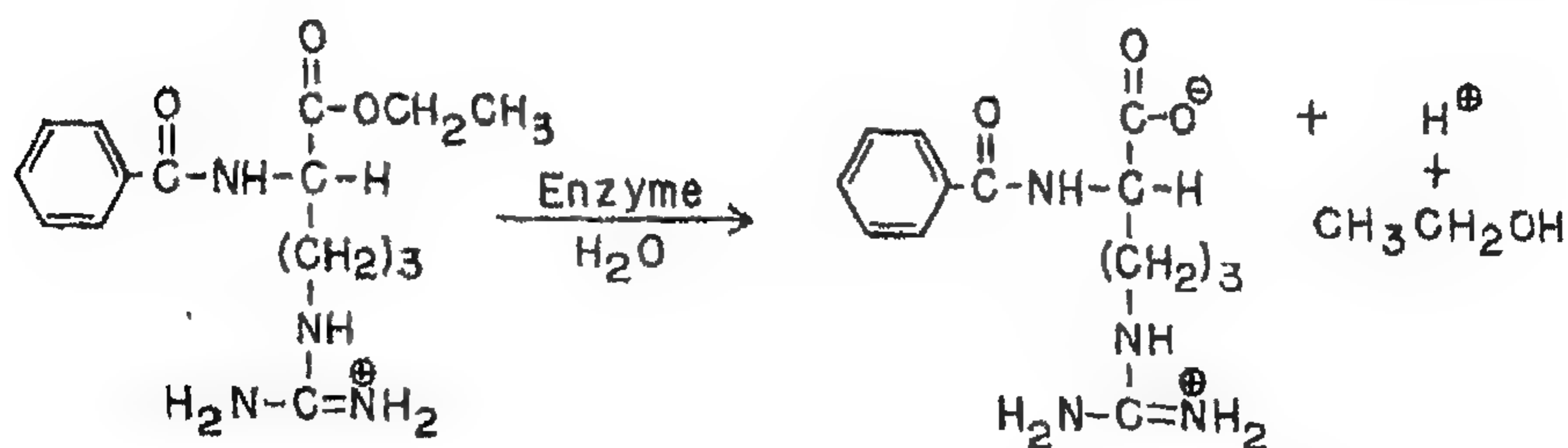
ب. استعمال رکائز محضرة مختبرياً

إن أكثر الركائز الصناعية لقياس هذه الأنزيمات، تحتوي على أواصر استر أو أميد أو أواصر ببتيدية ، وكمثال يمكن متابعة تحليل استر النيتروفينول - Nitrophenol ester وهي ركيز مولدة للصبغة chromogenic عند طول موجي 400 نانوميتر (في PH أعلى من 7) أو عند طول موجي 340 نانوميتر (في PH أقل من 7) كما في المعادلة 2-73:



(73 -2...)

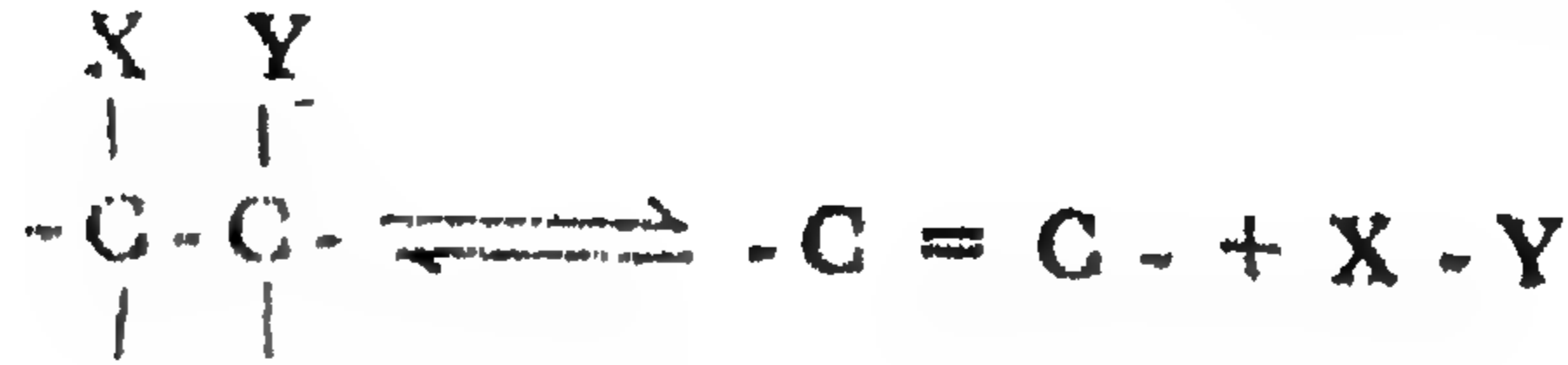
وكثيراً ما يمكن متابعة التحلل المائي للاسترات والإميدات بالطرق الطيفية فمثلاً يتضح التحلل المائي للمركب α - N-Benzoyl-L- arginine- ethyl ester بزيادة الإمتصاصية عند 253 نانوميتر لتكون مجموعة الكربوكسيلات كما في المعادلة (2-74) ... (2-74)



(74 -2) ...

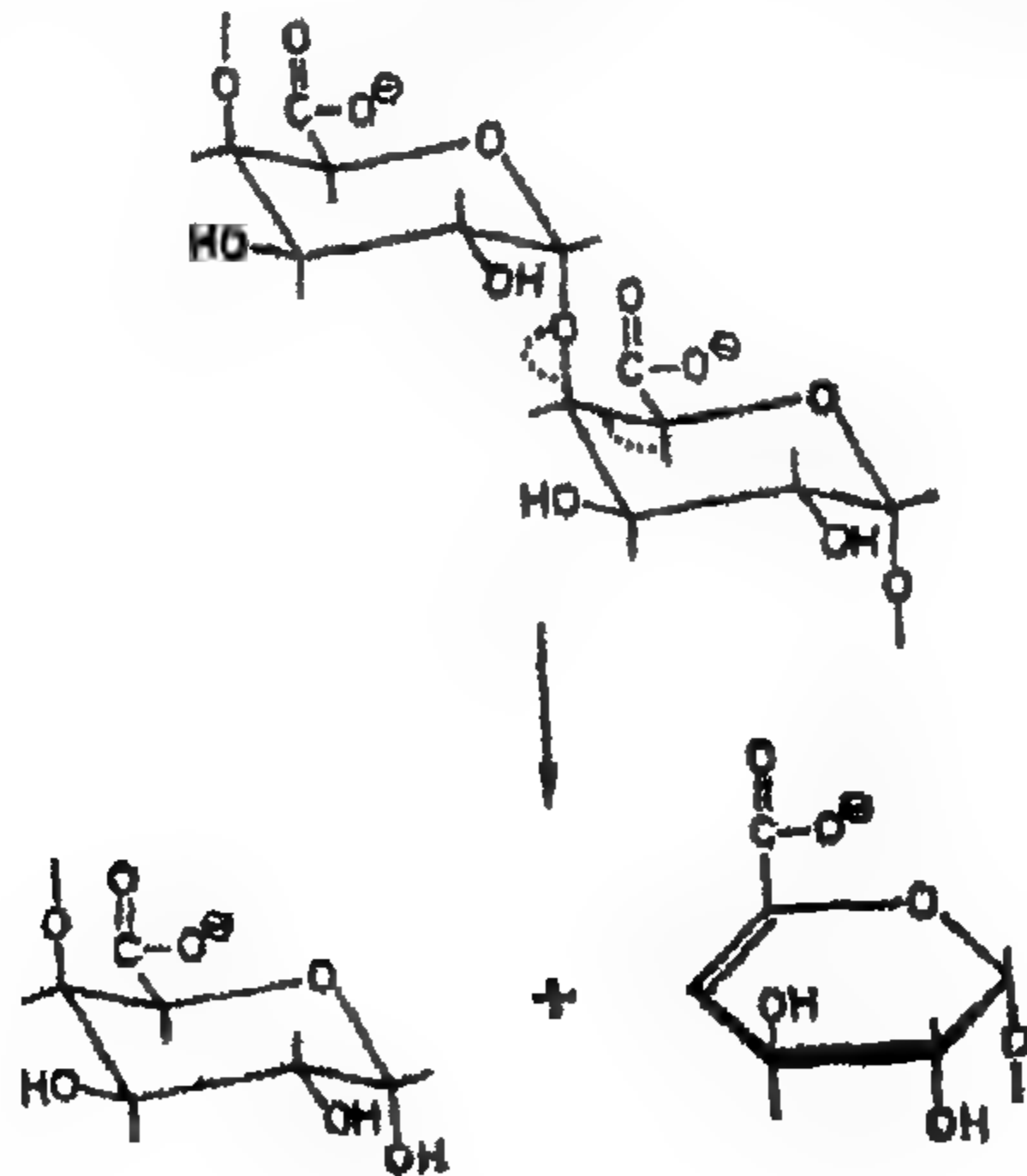
9-2 أنزيمات الفصل والإضافة Lyases

وتشمل الأنزيمات النازعة لمجاميع من الركائز بآلية غير التحلل المائي
مسببة تكوين أصرة مزدوجة



... (2- 75)

ويمكن أن تضيف هذه الأنزيمات مجاميع إلى الأواصر المزدوجة (التفاعل الخلفي) تمثل هذه الأنزيمات الصنف الرابع تبعاً للتسمية النظامية ويضم هذا الأنزيم الصنف الأنزيمات التي تعمل على الأواصر C-C و N-C و S-C و O-C ومن هذه الأنزيمات الأنزيم pectate lyase (1.4- D- Galacturonide lyase) الذي يعمل على كسر الأصرة الكلايكوسيدية O-C ويزيل 4.5- turonic acid A- D- Galac من البكتين ولكن ليس عن طريق التحلل المائي كما في المعادلة الآتية



... (2- 76)

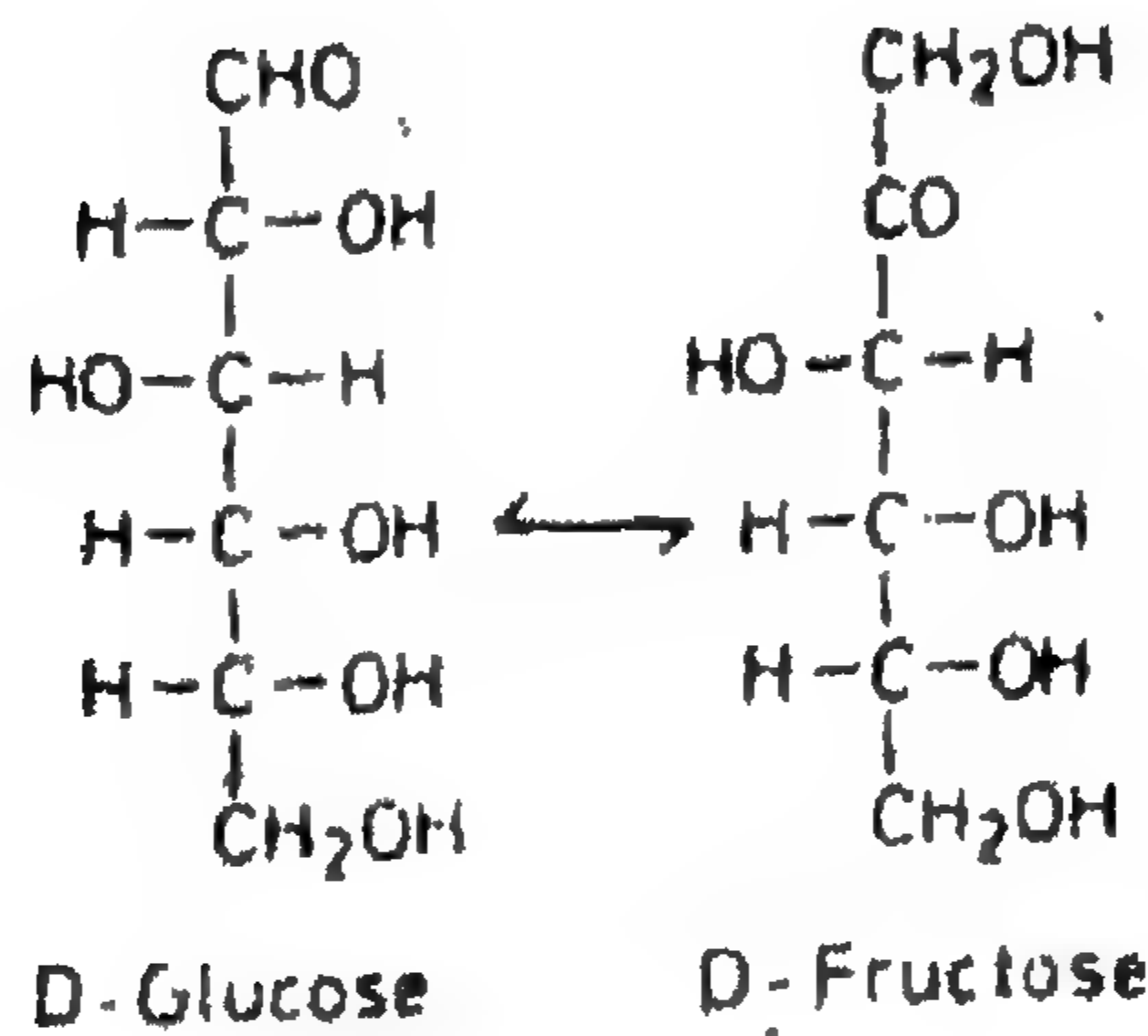
يوجد هذا الانزيم في القطر ASP - foncecaeus.

10-2 الايزومرات Isomerases

تمثل هذه الأنزيمات الصنف الخامس للأنزيمات وتحفز تحول مركب إلى زميرة Isomer وكمثال الأنزيمات المعروفة بالأسماء الشائعة: racemases و epimerases و Cis - Trans isomerases من هذه المجموعة الأنزيم

Glucose - Ketoisomerase) isomerase (D - -Glucose

ويحفز التفاعل العكوس الآتي:



... (2- 77)

ويحفز تحول الزايلوز Xylose إلى زايلولوز Xylulose (km للكلوكوز=0.16 مولار وللزايلوز=0.32 مولار). وبعد الزايلوز عاملاً محثاً inducing agent لإنتاج الأنزيم بواسطة Stretomyces albus

يلعب الأنزيم Glucose isomerase دوراً في صناعات الشراب Syrup والعصير إذ نتيجة لتحويل الكلوكوز إلى فركتوز بفعل هذا الأنزيم، تزداد حلاوة الشراب. ويمكن تحضير هذا الأنزيم من أنواع مختارة من الكائنات

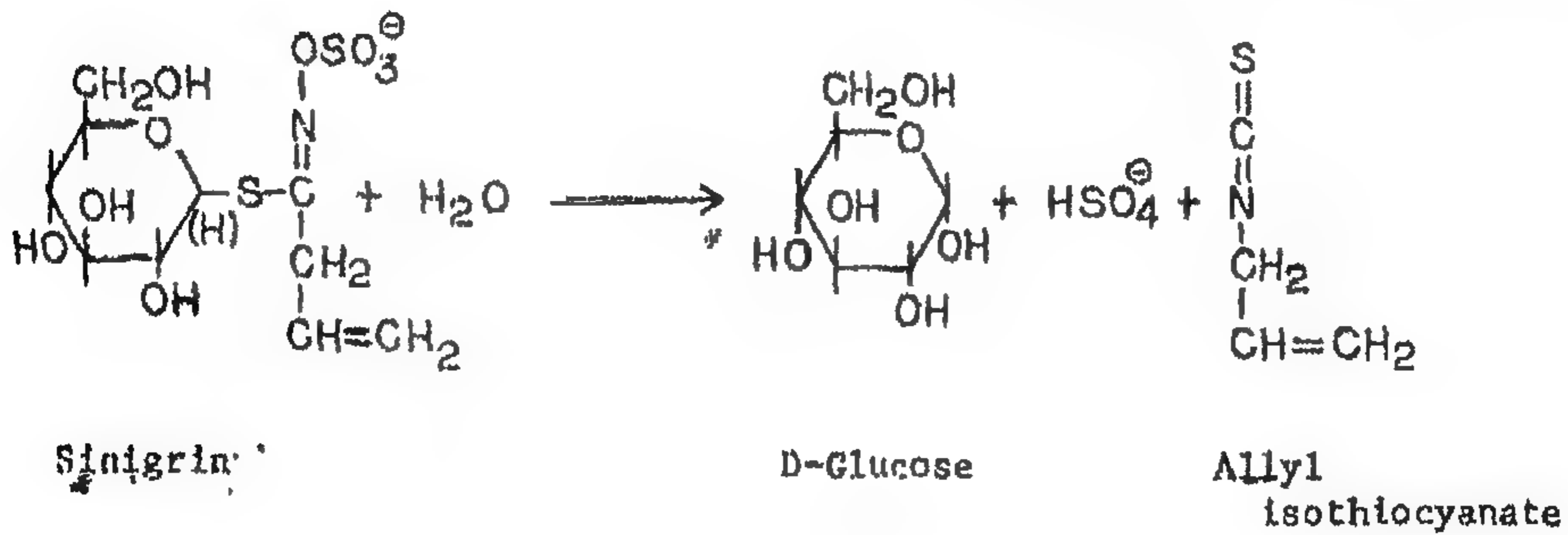
المجهرية مثل *Sterptomyces.albus* الأنزيم Glucose isomerase يعد Endoenzyme وهو مستقر في الرقم الهيدروجيني 4-12.

الدرجة الحرارية المثلى للأنزيم 80°م. وعند درجة الحرارة 25°م، يتكون عند الموازنة (معادلة 2-76) 57.5% كلوكوز و 42.5% فركتوز. أما في درجة 70°م فيشكل الكلوكوز 43.5% فركتوز. أما في درجة 70°م فيشكل الكلوكوز 43.5% والفركتوز 56.5%.

11-2 الأنزيمات المولدة لمركبات النكهة Flavor

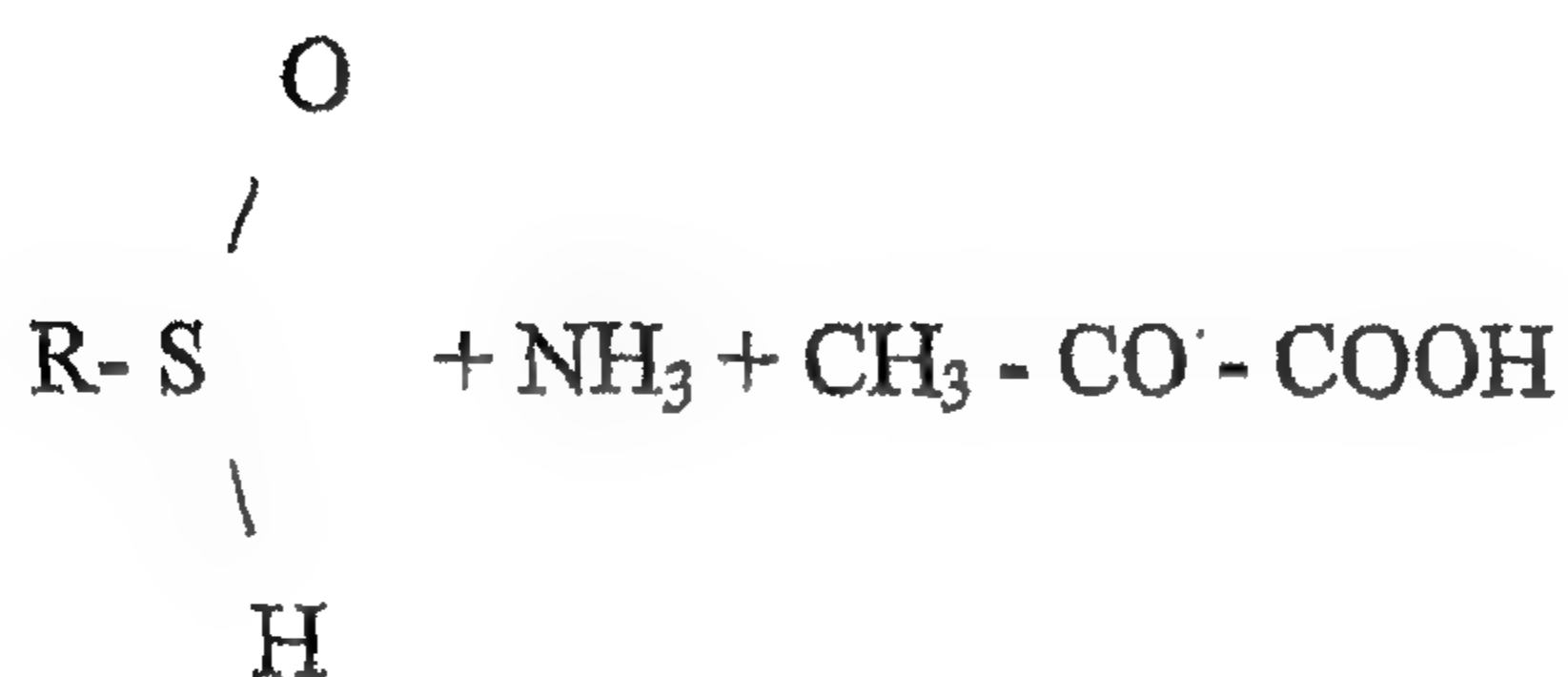
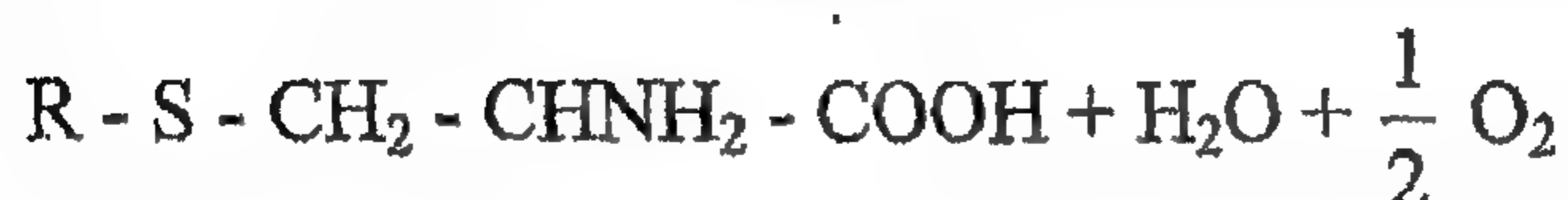
تتكون مركبات النكهة نتيجة لفعل أنزيم منفرد على سلف Precursor مركب النكهة. ويقصد بالنكهة صفتان رئيسيتان وهم الطعم والرائحة ويعني الإحساس المنبعث عن الفم والمركبات التي تعطي الرائحة هي متطايرة.

في النباتات مثلاً مثل الكرنب والفجل والخردل. يكون المركب المسؤول عن النكهة هو زيت الخردل Allyl isothiocyanate Mustardoil وكما يظهر من المعادلة، ينتج هذا المركب عن فعل الأنزيم Thioglycosidase في المركبات Thioglycosides مثل Sinigrin



... (2-78)

و Sinalbin ويسمى الأنزيم Thioglycosidase بالإسم الشائع Singigrinase إن
نكهة البصل ناتجة عن فعل الأنزيم lyase Endogenous S – L-Cystein Sulfoxide
alkyl ay - في المركب L- cysteine Sulfoxide وكما يأتي:



.... (2- 79)

إن المركب المتطير الناتج الحاوي على الكبريت مسؤول عن نكهة البصل.

12-2 المصادر

1. Farrer, K.T.H. The Thermal Destruction of Vitamin B₁ in foods. Adv. Food Res. 6.275.1955.
2. Ponting J.D. The control of Enzymatic Browning of Fruits In Food Enzymes Avil Publ. Co. Westport, Connecticut, 1960
3. Heimann W. and Heimann, A. Mechanisms der Wissnschaft. Linches Veroffetnlichungen der deustchen Gesellschaft fur Ernährung, Ascorbinsaure Bd 14.1964.
4. Mapson. L.W. Enzymic Browning of prepeeled potato tissue Nitriton (London) 19, 123.
5. Plank, R. Handbuch der kaeltetechink. Ed. Xiv. Springer. Verlage: Berlin, 1966.
6. Klotz. J.M Comparison of molecular structures of proteins: Helix Content. Distribution of Apolar Residues, Arch. Biochem, Bio-phys. 138, 74,1971.
7. Gray. C.J. Enzyme-Catalysed Reaction. Van Nostrand Reinhold Comp. London 1971.

8. Eskin, N.A.M. Henderson H.M. Townsed. R.J Biochemistry of Foods, 1971.
9. Whitaker. J.R. Principles of Enzymology for the Food sciences. Dekker. Inc. New York, 1972.
10. Karlson P. Blochemie. Georg thieme Velag stgt. 1972.
11. Shaltiel, S.U.Z Er- el Proc. Not. Acad. Sci (U.S.A) 70.778.1973.
12. Hofstee, B.H.j. Hydrophobic Affinity chromatography of Proteins. Anal. Biochem. 52. 420.1973.
13. Hjerten. S. Some General Aspects of Hydrophobic Interaction chromatography. J. chrom. 87. 325. 1973.
14. Porath j. Sundberg. L.U. I Olsson. Salting out in Amphiphilic Gels as a New Approach to Hydrophobic Adsorption, Nature 245.465.1973.
15. Brockerhoff. H. Lipolytic Enzymes. In Food Related Enzymes (Ed. Whitaker.J.R.) p.131, Advances in chemistry Series 136 American chemical Society: Wasington, D.C. 1974.
16. Bergner, K.-G and Sabir D.M.Z. lebensum Unters-Forsch.165.85. 1977.
17. Veldink. G.A. Vliegthart. J.F.G. Boldingh. J. Plant Lipoxygenses, Prog. Chem. Fats and other lipids 15,131, 1977.
18. Lehninger. A.L. Biochemie. Verlag chemie, weinheim. 1977.
19. Klaeui H. Anwerdung der Vit C und E als Antioxidantein in der Lebensmitteltechn. In: N  t  reliche and Synthetische Zusatzstoffe in

- der Nahrung des Menschen, C.I.I.A. Symposia. S. 62-84, Steinkopf, Darwstadt.1974.
20. Bruchmann,E.E. Angewandte Biochemie Verlag Eugen Ulmer Stuttgart, 1979.
 21. Heimann, W. Fundamentals of Food Chemistry. Ellis Hodwood Publishers, 1980.
 22. Seib.p.A. & Tolbert B.M.Ascorbic Acid chemistry. Mtabolism and Uses, Avances in chemistry· Series 200. American chemical Society. Washington,D.C. 1982.
 23. Cunningham. E.B. Biochemistry Mechanism of Metabolism, McGraw-Hill Book Company 1978.
 24. Counsell j.N. Horing, D.H. Vitamin C (Ascorbic Acid)Applied science Publ. London. New Jersey. 1981.
 25. Gierschner,K.Zur Chemie and Technologie der pectinstoffe (teil 1).Intern.Zeitschrift fur Lebensmitteltechnologie and Verfarentechnick.200.34.1983.
 26. I B D.Teil 2. 624.34.1983.
 - 27.Sabir,D.M. Zur Kenntnis Von Manna Z.Von Lebensm. Rund 1445,1984.
 28. Belitz H.D. & Grosch W. Lehrbuch der Lebensmittelechemie Zweite Auflage, Springer Velag,1985.
 29. Stryer.L.Biochemistry.3rd den. Freeman &Co.New York.1988.

الفصل الثالث

الاختمار Fermentation

الفصل الثالث

الإختمار Fermentation

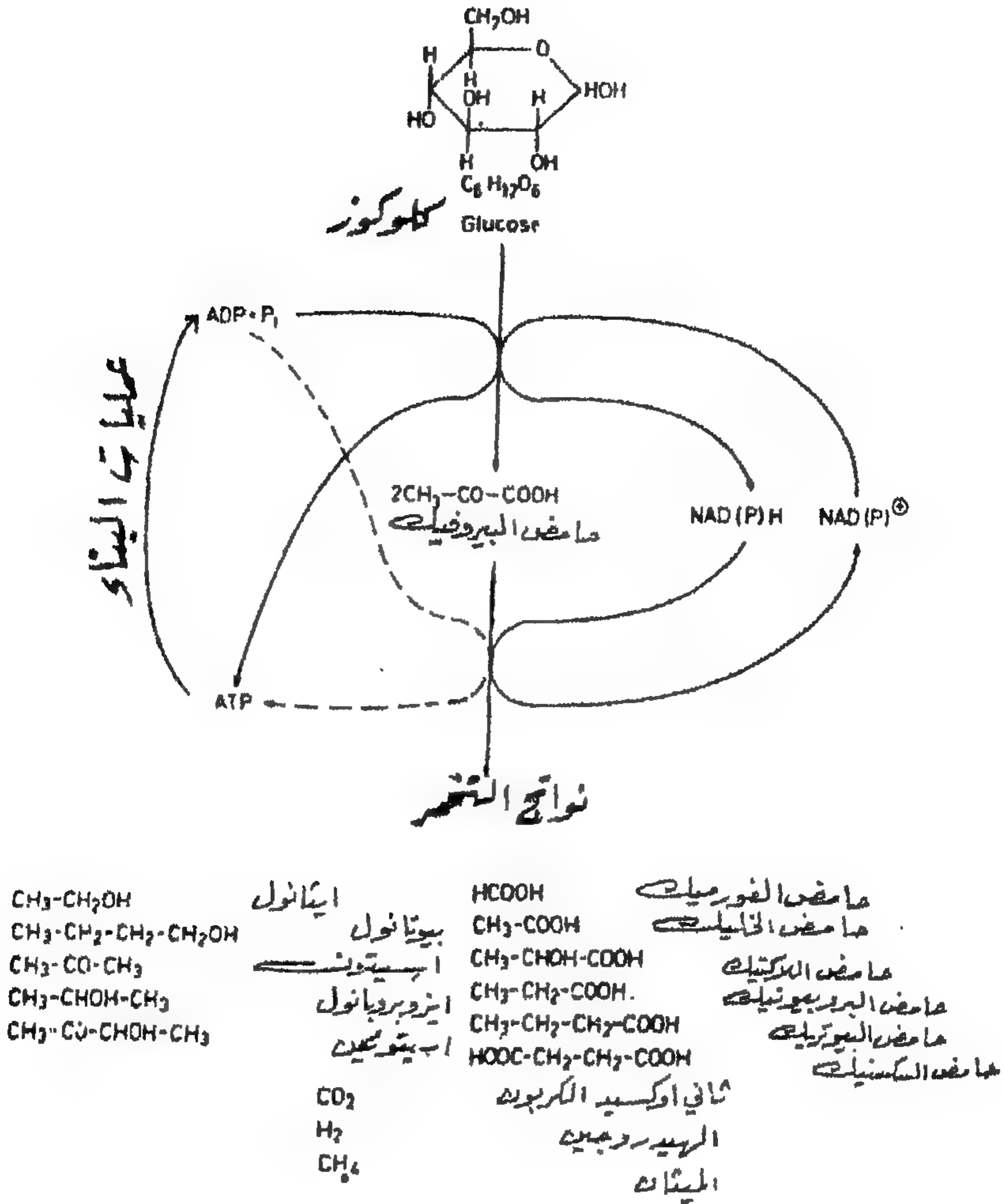
Anaerobic Fermentation

1-3 الإختمار اللاهوائي

الاختمار اللاهوائي عمليات كيميائية حيائية منتجة للطاقة تسحب من خلالها ذرات الهيدروجين أو الإلكترونات (أي ما يسمى مكافئات الإختزال) من مركبات عضوية تمثل على الأغلب نواتج تحليل الكربوهيدرات وتنقل إلى مركبات مستلمة وهي التميمات الأنزيمية Coenzymes أو المجاميع الضميمة Prosthetic groups وبذلك يعمل المركب العضوي بمثابة واهب لمكافئات الإختزال Donor فيما يمثل الأنزيم أو المجموعة الضميمة المركب المتقبل لها Acceptor

يكون المركب عالي الطاقة ATP في الإختمار اللاهوائي بطريفة الفسفرة على مستوى الركيزة Substrate-level phosphorylation حيث تنتقل مجموعة الفسفات من المركبات الوسطية المفسفرة إلى المركب ADP. ويمكن توضيح مجمل عمليات الإختمار اللاهوائي بصورة عامة بالشكل (1-3):

يتضح من الشكل بأن سكر الكلوكوز يتحول في عمليات الإختمار إلى ناتج رئيسي مركزي وهو حامض البيروفك Pyruvic وتتكون نواتج التخمر المختلفة من هذا الحامض فيما بعد اعتماداً على الأنواع وتوافر أو عدم توافر الأوكسجين. يمثل تحول السكر إلى حامض البيروفك عملية أكسدة يتم من خلالها سحب ذرات الهيدروجين وربطها بتميمات أنزيمية متخصصة NAD^+ ، وبذلك يتم اختزالها. تستعمل التميمات الأنزيمية المختزلة فيما بعد لإختزال حامض البيروفك نفسه أو نواتج تحليله لتكوين نواتج الإختمار النهائية فمثلاً يختزل حامض البيروفك إلى لاكتك Lactic بوصفه ناتجاً نهائياً.



شكل (1-3) مخطط عام للاختمار اللاهوائي.

وفي بعض عمليات الإختمار، تستخدم ذرات الهيدروجين المسحوبة من المركبات العضوية لإختزال مركبات غير عضوية. ينتمي إلى هذا النوع من الإختمار أو "التنفس اللاهوائي" إختزال النتрат إلى أمونيا NH_4^+ أو نتروجين N_2 أما الكبريتات فتختزل إلى كبريتيد الهيدروجين H_2S يتضح مما تقدم بأن النترات أو الكبريتات استخدمت في التنفس اللاهوائي كمتقبلات (مستلمات) نهائية للإلكترونات.

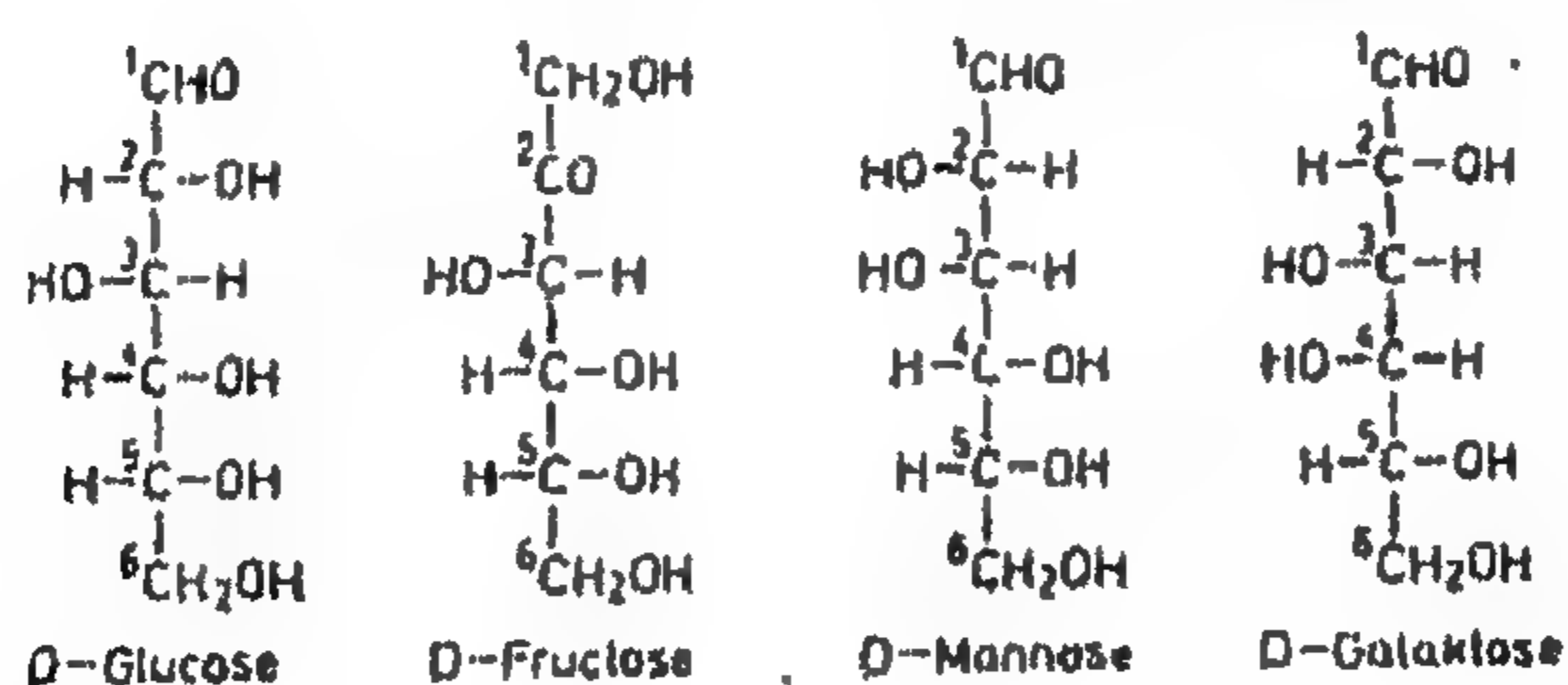
3-1-1: بعض الاختبارات اللاهوائية المتخصصة

Specific anaerobic fermentations

3-1-1-1: الاختمار الكحولي

الاختمار الكحولي عملية كيميائية حيائية عرفت منذ زمن بعيد وكتبت المعادلة الإجمالية لها عام 1851 من قبل الباحث Gay-Lussac. يحصل هذا النوع من الاختمار في الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* ولقد أمكن التوصل إلى معرفة المركبات الوسطية للعملية والأنزيمات المحفزة لتحولاتها بعد مائة سنة تقريبا.

تختمر السكريات الأحادية كلوكوز ومانوز ذات الشاكلة "دي" D-sugar بفعل مجموعة أنزيمات الخميرة التي سميت سابقا Zymase، كما سميت هذه السكريات Zymohexoses. يختمر كل من السكرين وكلوكوز وفركتوز بالسرعة نفسها فيما يختمر المانوز بسرعة ابطأ. وعند مقارنة تراكيب هذه السكريات (شكل 3-2)، نجد تطابقا في توزيع مجاميع الهيدروكسيل عند ذرات الكربون 3 و4 و5 وهذا ضروري ومفروض للتحويل الأنزيمي لجزيئة سكر سداسي الكربون إلى جزيئتي سكر ثلاثية الكربون.

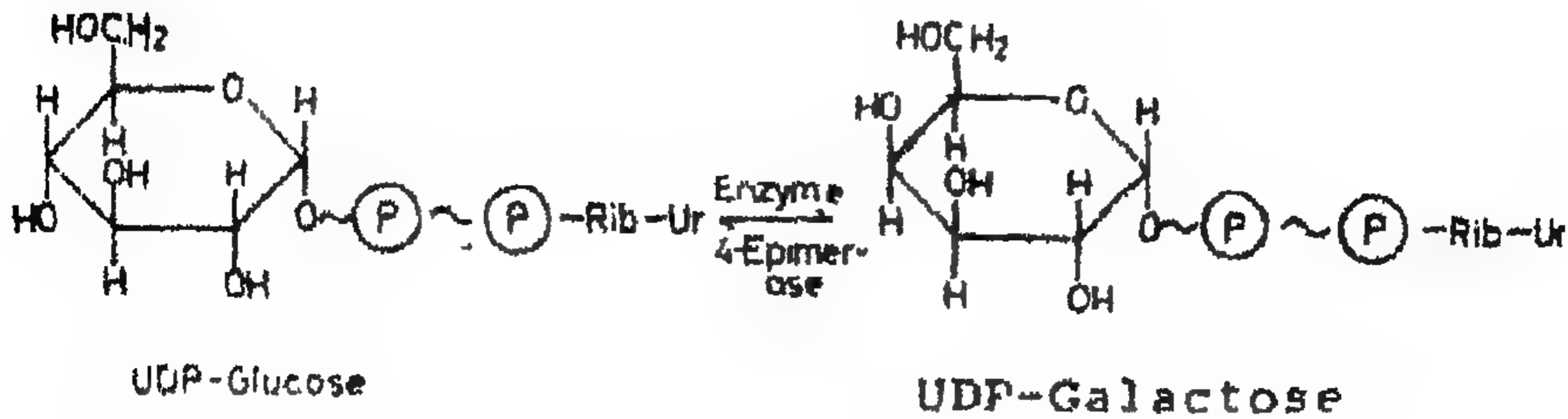


دي-كالاكتوز - دي-مانوز - دي-فركتوز - دي-كلوكوز

شكل (3 - 2) تركيب بعض أحاديات السكر سداسية الكربون.

يختمر سكر الكالاكتوز بسرعة من قبل عدد من الأحياء المجهرية (خمائر سكر الحليب) إذ تمتلك هذه الخمائر الأنزيم Epimerase-4 المحفز لتفاعلات المزامرة Isomerization بين Uridine diphosphate-glucose و

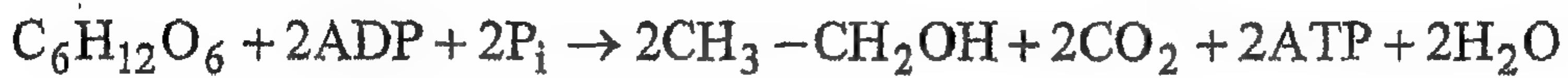
Uridine diphosphate-galactose كما في المعادلة الآتية:



(1-3)...

وهكذا يتحول الكالككتوز إلى الكلوكوز القابل للإختمار وتعد هذه الخطوة أساسية لإمكانية استخدام الكالككتوز من قبل الأحياء المجهرية وبدونها يكون الكالككتوز غير قابل للإختمار.

إن النواتج الرئيسية في الإختمار الكحولي هي الايثانول وثاني أكسيد الكربون ويمكن تمثيل المعادلة المثالية للإختمار الكحولي في الخميرة في الرقم الهيدروجيني 4-5 كما يأتي:



إضافة إلى النواتج الرئيسية، ينتج في الإختمار الكحولي نواتج ثانوية أخرى مثل الكلسيروول وحامض الخليك وحامض السكسنيك وتزداد نسبة تكوين الكلسيروول وحامض الخليك عند زيادة الرقم الهيدروجيني لمحلول الركيزة كما يتضح من الجدول (1-3).

جدول 3-1: تغير تركيزات النواتج في عملية الاختمار الكحولي، التي تحصل في الخميرة

Saccharomyces Cerevisiae مع تغير الرقم الهيدروجيني

لمحلول الركيزة (كلوكوز).

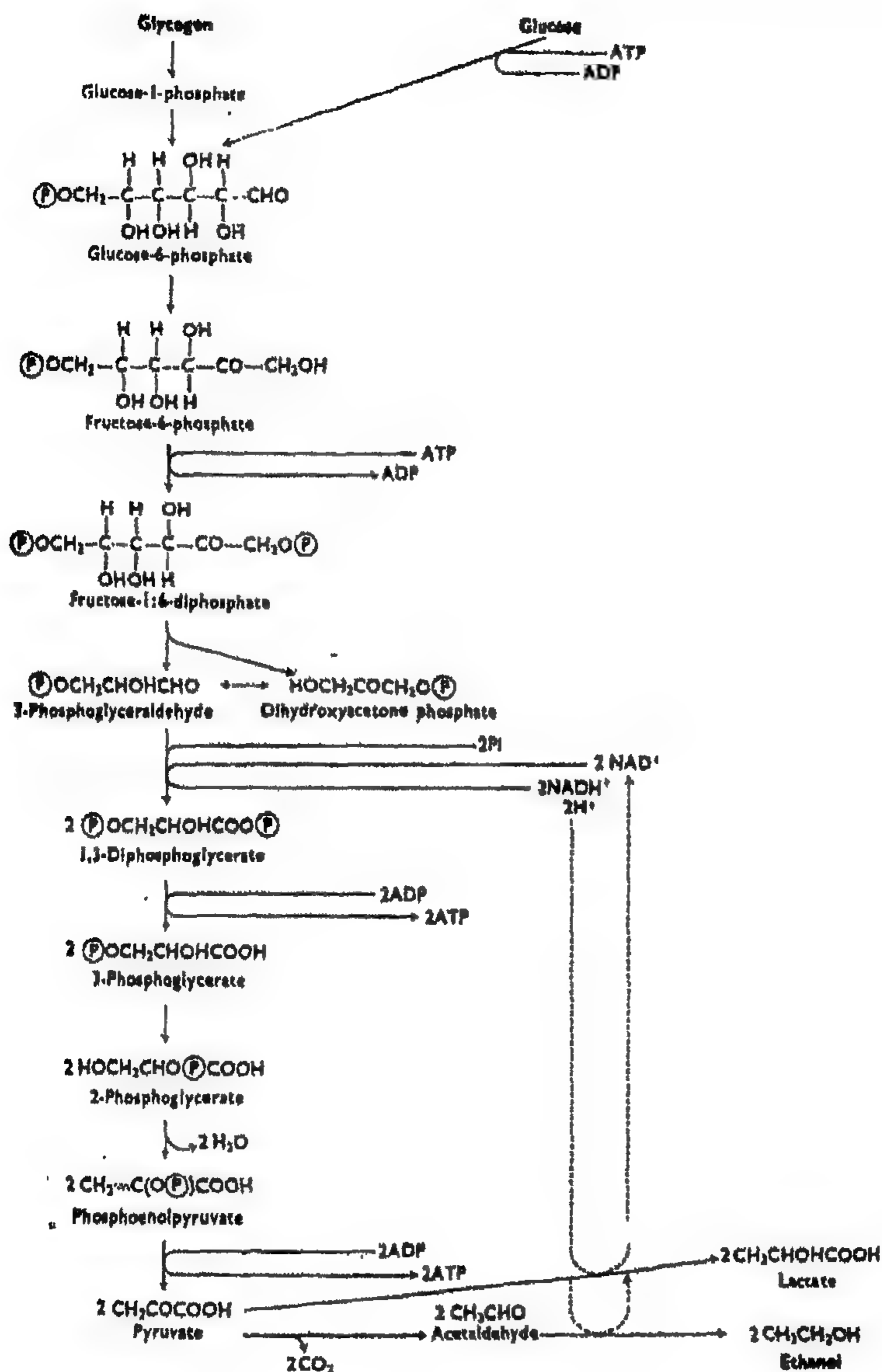
PH التركيز (ملي مولار) لكل 100 ملي مولار كلوكوز قيد التخمر	الرقم الهيدروجيني				
	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0
إيثانول	171.5	177.0	172.6	160.5	149.5
CO ₂	180.8	189.8	187.6	177.0	161.0
كلسيرول	6.16	6.60	7.82	16.2	22.2
حامض الخليك	0.52	0.69	0.84	4.03	8.60
إسيتيل ميثيل كاربيونول acetion	—	—	—	—	0.07
حامض السكسينك	0.53	0.26	0.32	0.49	0.23
3، 2- بيوتان دايل	0.75	0.48	0.46	0.53	0.45
حامض البيوتراك	0.13	0.32	0.25	0.36	0.25
حامض الفورمك	0.36	0.42	0.63	0.87	35.
حامض اللاكتك	0.82	0.38	0.47	1.63	1.93
زمن الاختمار (بالساعات)	29	14.5	17.5	15.5	35
النسبة المئوية للكلوكوز المختمر	98.0	97.0	96.5	98.0	98.3
النسبة - للكاربون الكلي المقدر في نهاية التجربة	93.8	98.0	96.3	96.4	92.5

أما خطوات الإختمار الكحولي للكلوكوز والمركبات الوسطية المتكونة

يمكن توضيحها بمسلك إمدن-مايرهوف-بارناس Embden-Mycrhof-Parnas

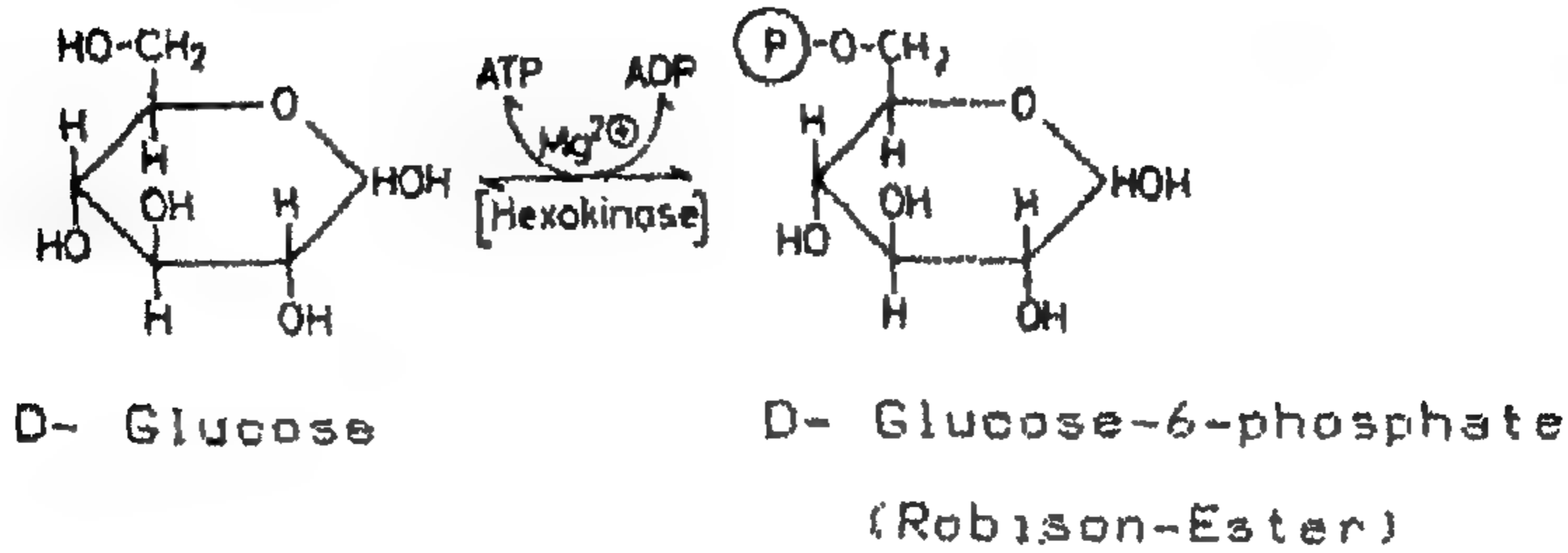
pathway (شكل 3-3).

وفيما يلي توضيح لخطوات المسلك:



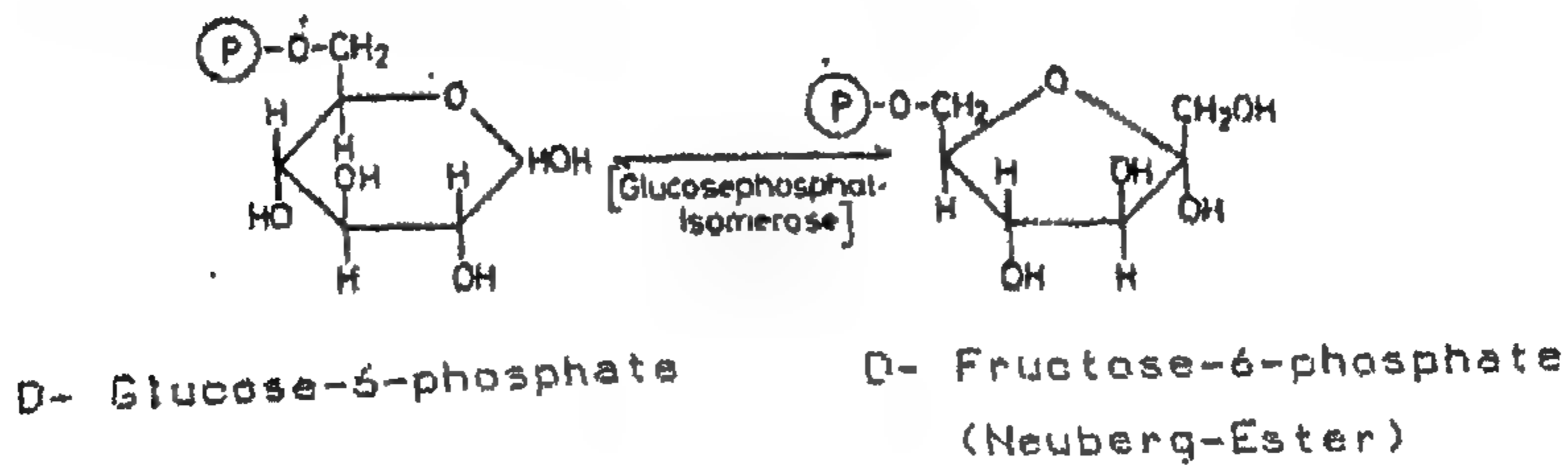
شكل (3-3) مسلك إمدن - مايرهوف - بارتاس - لتحلل السكر.

الخطوة الأولى: يتم في هذه الخطوة فسفرة الكلوكوز إلى كلوكوز-6-فسفات ويسمى الناتج إستر روبنسن Robinson ester.



... (3-3)

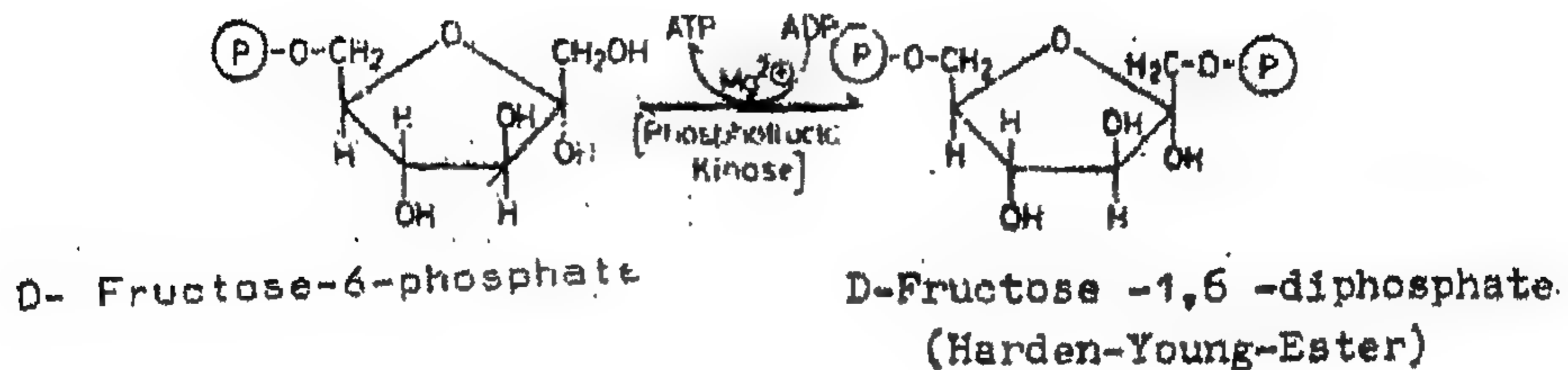
تتم هذه الخطوة بفعل أنزيم الهكسوكيناز Hexokinase ويعد كلوكوز-6- فسفات الصيغة الأيضية النشطة للكلوكوز في الخلية الحية. الخطوة الثانية: يتحول الكلوكوز-6- فسفات إلى المركب الإيزومري فركتوز-6- فسفات ويدعى المركب الأخير إستر نويبرك Neuberg ester:



... (4-3)

يحفز التفاعل الأنزيم Glucose Phosphate isomerase ويتخصص الأنزيم للركيزتين كلوكوز-6- فسفات وفركتوز-6- فسفات.

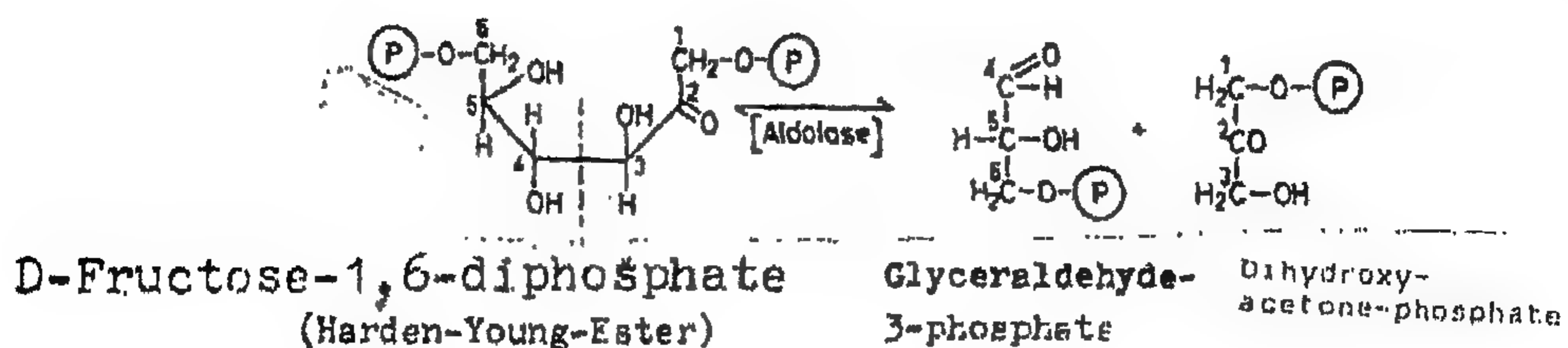
الخطوة الثالثة: يحفز الأنزيم phospho fruco-kinase (الإسم النظامي):-
 ATP:D phosphotransferase 1- Fruce-6-phosphate تحول فركتوز-6-
 فسفات إلى فركتوز-1-6 ثائي الفسفات بوجود المركب ATP كمانح لمجموعة
 الفسفات ويدعى الناتج إستر هاردن- يونك Harden-Young ester



(5-3) ...

يستطيع الأنزيم Phosphofructo kinase استخدام (GTP) triphosphate
Guanosine أو Inosine triphosphate (ITP) أو cytidine (CTP)
triphosphate أو Uridine triphosphate (UTP) بمثابة المركب المانح لمجموعة
الفوسفات عوضاً عن المركب ATP.

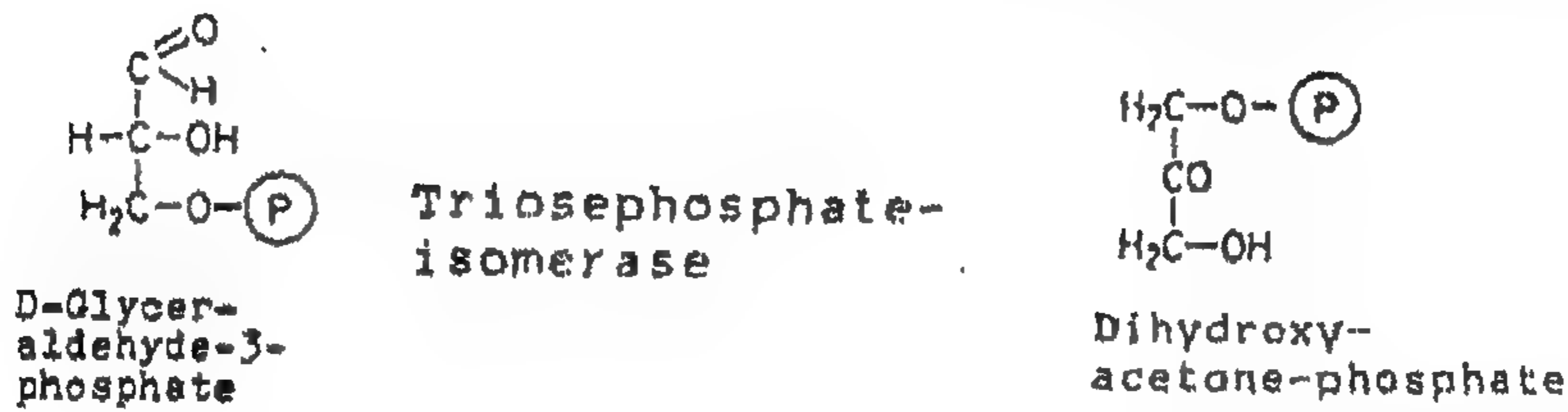
الخطوة الرابعة: وهي الخطوة المميزة للمسلك إذ يتم فيها تحول فركتوز 1-6 ثنائي الفوسفات إلى كلسر الدهيد-3- فوسفات وفوسفات الاستون ثنائي الهيدروكسل Dihydroxyacetone phosphate بفعل أنزيم الالدولاز Aldolase. إن وجود هذا الأنزيم في خلايا أو نسيج معين يعني القدرة على تحليل السكر بمسلك إمدن-مايروهوف-بارناس.



(6-3) ...

لأنزيم الالدولاز تخصص عال للركيزة فركتوز-1-6 ثنائي الفسفات إن هذا الأنزيم لا يعمل نهائياً في الركيزة فركتوز-6-فسفات ومن المواد المثبطة للأنزيم: ATP و ADP و AMP والمركبات المشابهة تركيباً للركيزة مثل L-Sorbose-1.6-bis phosphate و D-Fructose-6-phosphate.

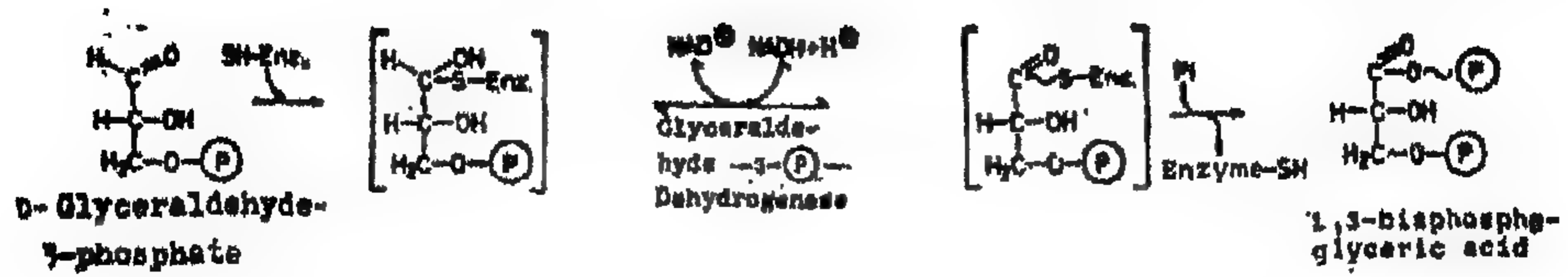
الخطوة الخامسة: يحفز الأنزيم Triosephosphate isomerase التحول الرجوعي (عكوس، Reversible) بين Glyceraldehyde-3-phosphate و Dihydroxyacetone phosphate.



... (7-3)

يملك الأنزيم المحفز للتفاعل رقم تحول عالياً High turnover number ويسمى الأنزيم المرشد لمسلك إمدن-مايرهوف-بارناس-شأنه بذلك شأن أنزيم الالدولاز- إذ أن الكشف عنه في خلية من الخلايا يشير إلى تحلل السكر بالمسلك المذكور.

يثبط الأنزيم Triose phosphate isomerase بالفسفات اللاعضوية P_i .
الخطوة السادسة: يتأكسد المركب Glyceraldehyde3-phosphate بوجود الأنزيم Glydceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase والتميم الأنزيمي NAD^+ والفسفات اللاعضوية P_i وينتج عن التفاعل 1-3-bisphosphoglyceric acid.



(8-3) ...

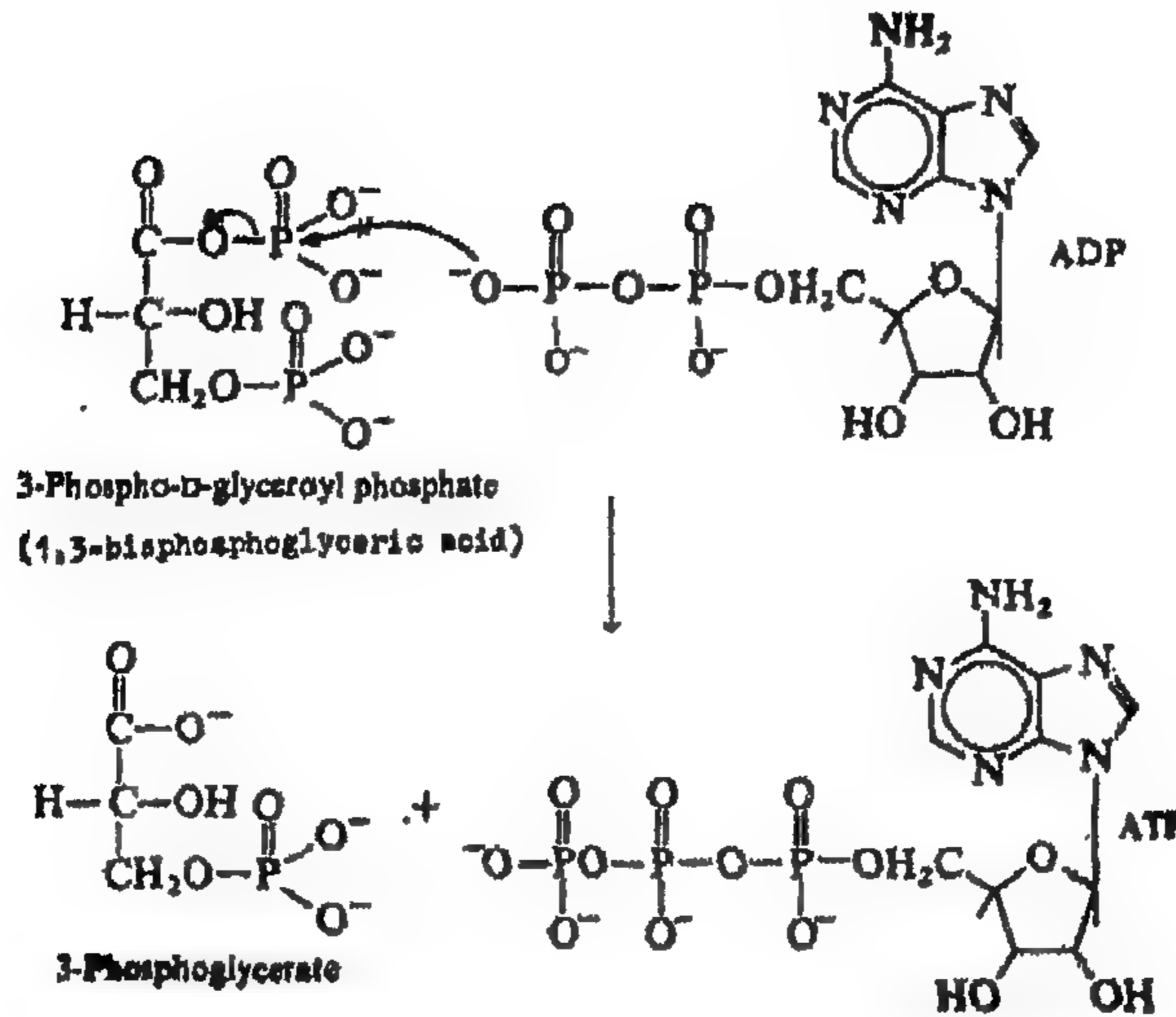
يتضح من المعادلة (8-3) تكون المركب الوسيطى (معقد الأنزيم-الركيزة) الذي يتأكسد (بإزالة الهيدروجين) ويتحول إلى Acyl-S-enzyme وهذا المركب ثايواستر Thioester غنى بالطاقة يتحول بعدئذ إلى المركب Acylphosphate وهو الحامض 1.3-bisphosphoglyceric (1.3-bisphosphoglyceric acid) وبذلك تبقى طاقة مركب الثايواستر مخزونة في المركب الأخير.

الخطوة السابعة: تنقل مجموعة الفوسفات من المركب 1.3 - bis phosphoglyceric acid إلى المركب ADP وبذلك يتكون المركب ATP عالي الطاقة:



(9-3) ...

إن تكوين المركب ATP بهذه الطريقة يسمى فسفرة على مستوى الركيزة Sub-Strate-level phosphorylation ويمكن توضيح آلية التفاعل بالمعادلة الآتية:

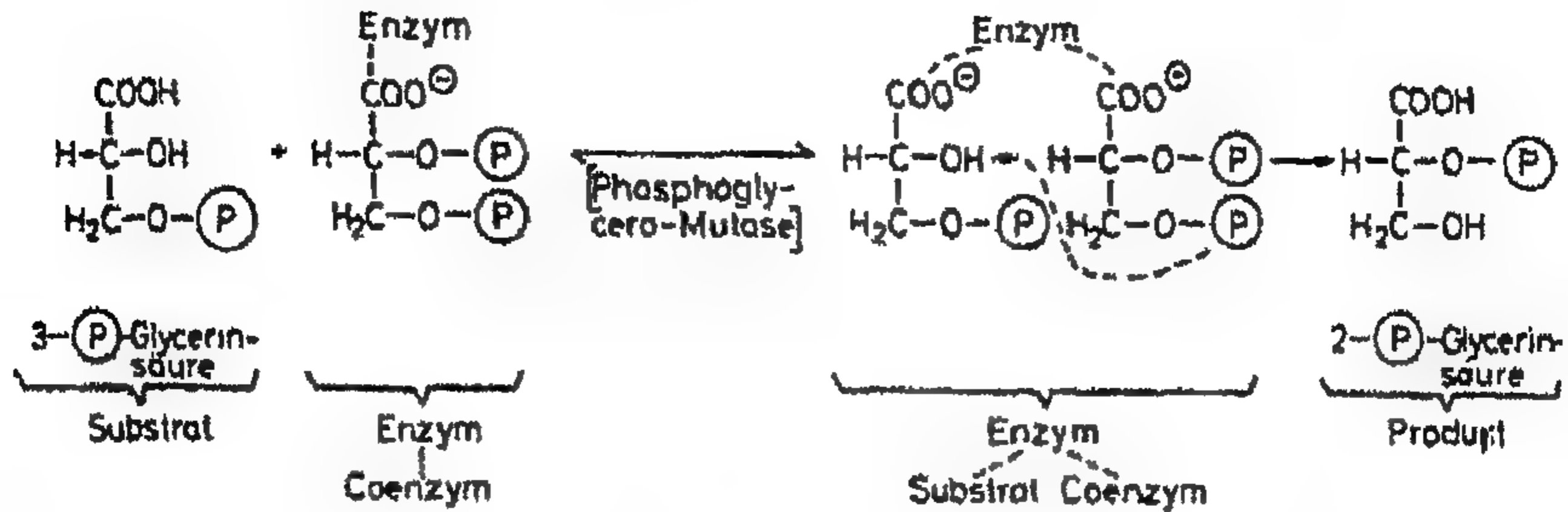


(10 - 3) ...

يتكون في هذا التفاعل - نتيجة لأكسدة حزيثي سكر ثلاثي الكربون -
حزيثي ATP من مجموع الجزيئات الأربع الناتجة عن مسلك امدن - مايرهوف -
بارناس.

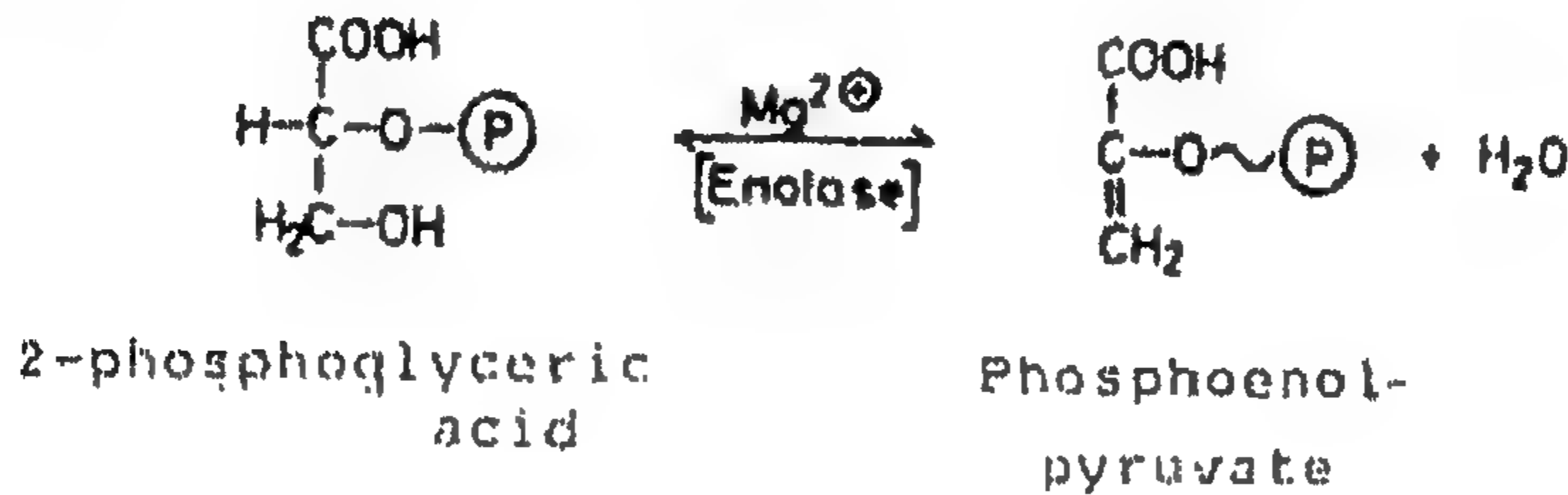
يعد الأنزيم Phosphoglycerate kinase المحفز للتفاعل، شديد التخصص
ولا يستطيع استخدام AMP (Adenosine monophosphate) أو pyruvate
phosphoenol أو 2,3-bisphospho-D-glycerate بمثابة ركائز ويحتاج في
عمله إلى أيون المغنيسيوم، إذ أن الركيزة الحقيقية للأنزيم هي المعقد Mg-ATP.
الخطوة الثامنة: يتحول المركب 3-phosphoglyceric إلى
2-Phosphoglyceric بواسطة الأنزيم Phosphoglyceromutase. يعمل المركب
2,3-bis-phosphoglycerate pho وصفه تميما أنزيميا إذ يعمل الأنزيم على نقل
مجموعة الفسفات من الموقع 3 للتميم الأنزيمي إلى الموقع 2 للركيزة بعد ارتباطها
بالأنزيم وبهذا يتكون المعقد enzyme-Coenzyme Substrate - الذي يتفكك
بعد ذلك لإعطاء المركب 2-phosphoglycerate الناتج عن إزالة الفسفات من

التميم الأنزيمي- والمركب 2.3 Bis Phosphoglycerate نتيجة لفسفرة الركيزة ويعمل المركب الأخير بمثابة تميم أنزيمي من جديد:



.... (3 - 11)

الخطوة التاسعة: يتكون في هذه الخطوة المركب Phosphoenol pyruvate من المركب 2-Phosphoglyceric acid بواسطة الأنزيم Enolase الذي يتطلب وجود أيونات المغنيسيوم في عمله:



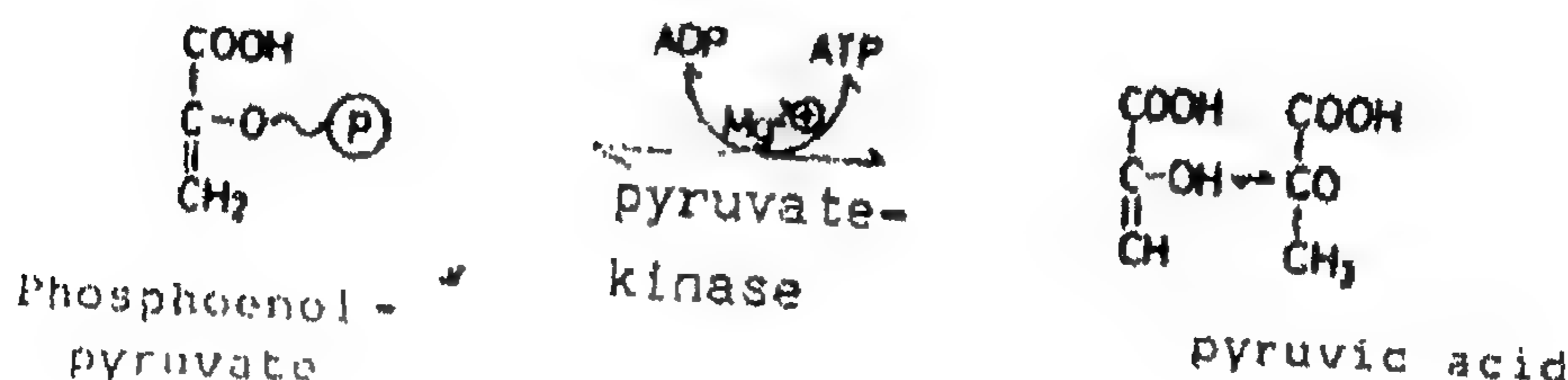
(3 - 12)

إن ناتج التفاعل Phosphoenol pyruvate استراينولي Enol ester وهو مركب عالي الطاقة.

يمكن تثبيط أنزيم الاينولاز- وبالتالي الإختمار- باستعمال أيونات الفلوريد F^- إذ تؤدي إلى تراكم حوامض الفسفوكلسيرونل Phosphoglyceric acids ويعود تأثير أيونات الفلوريد إلى تكوين المعقد Mg-Fluorophosphate الذي يعد المثبط الحقيقي للأنزيم إذ يرتبط في الموقع النشط. قد يعود مفعول حماية الأسنان من قبل أيونات الفلوريد إلى تثبيط تحليل السكر علما بأن الفلوريد يستخدم في

بعض أنواع معجون الأسنان كما ينصح بطلاء أسنان الأطفال بالفلوريد للغرض نفسه.

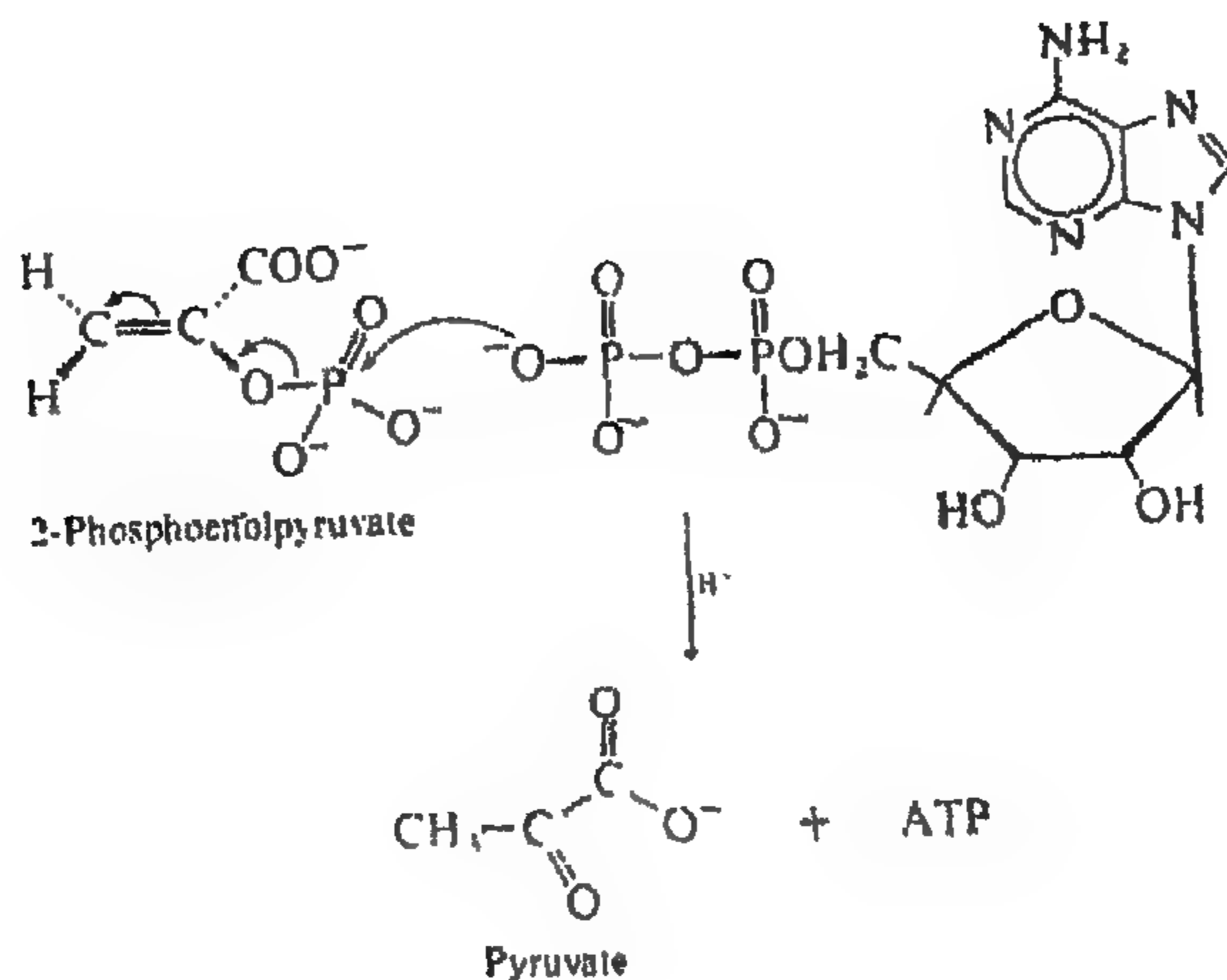
الخطوة العاشرة: يتم في هذه الخطوة تكوين ATP بالفسفرة على مستوى الركيزة (انظر الخطوة السابعة) بفعل أنزيم Pyruvate kinase الذي يؤدي إلى نقل مجموعة الفسفات من المركب عالي الطاقة phosphoenol pyruvate إلى المركب ADP.



... (13-3)

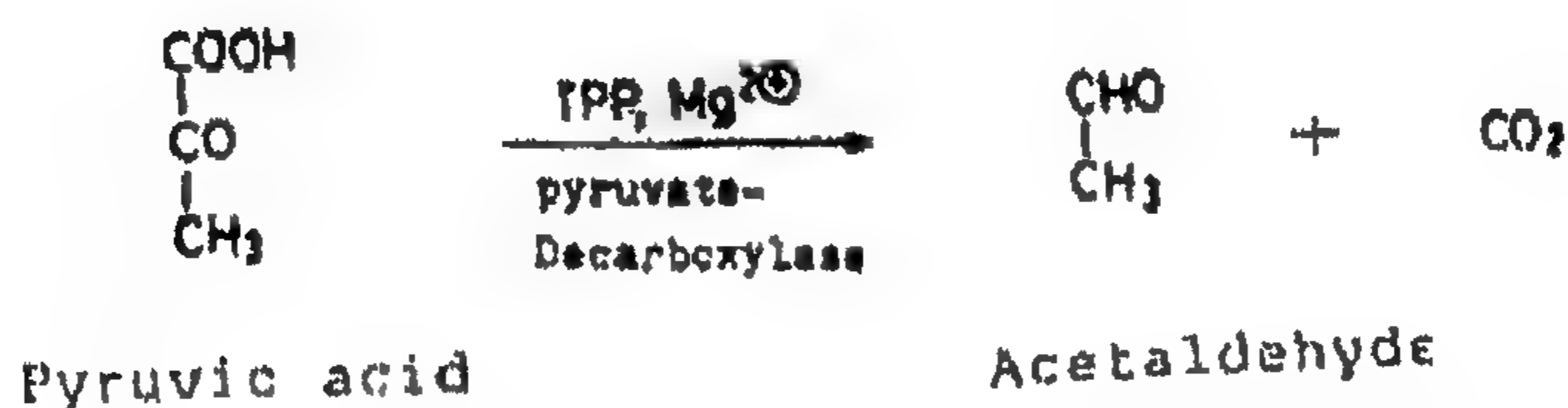
ويمكن توضيح آلية التفاعل بالمعادلة الآتية:

وبذلك تتكون جزيئتان ATP من جزيئي Phosphoenol pyruvate الناتجتين عن تحلل جزيئة سكر الكلوكوز. تمثل جزيئتا ال ATP الناتجتان من هذه الخطوة مع الجزيئتين المتكونتين في الخطوة السابعة نتاج Out put مسلك امدن-مايرهوف-بارناس من الطاقة الكيميائية وإذا ما أخذنا بنظر الاعتبار استهلاك جزيئي ATP في الخطوة الأولى والخطوة الثالثة تكون حصيلة للمسلك جزيئتا ATP.



(14-3) ...

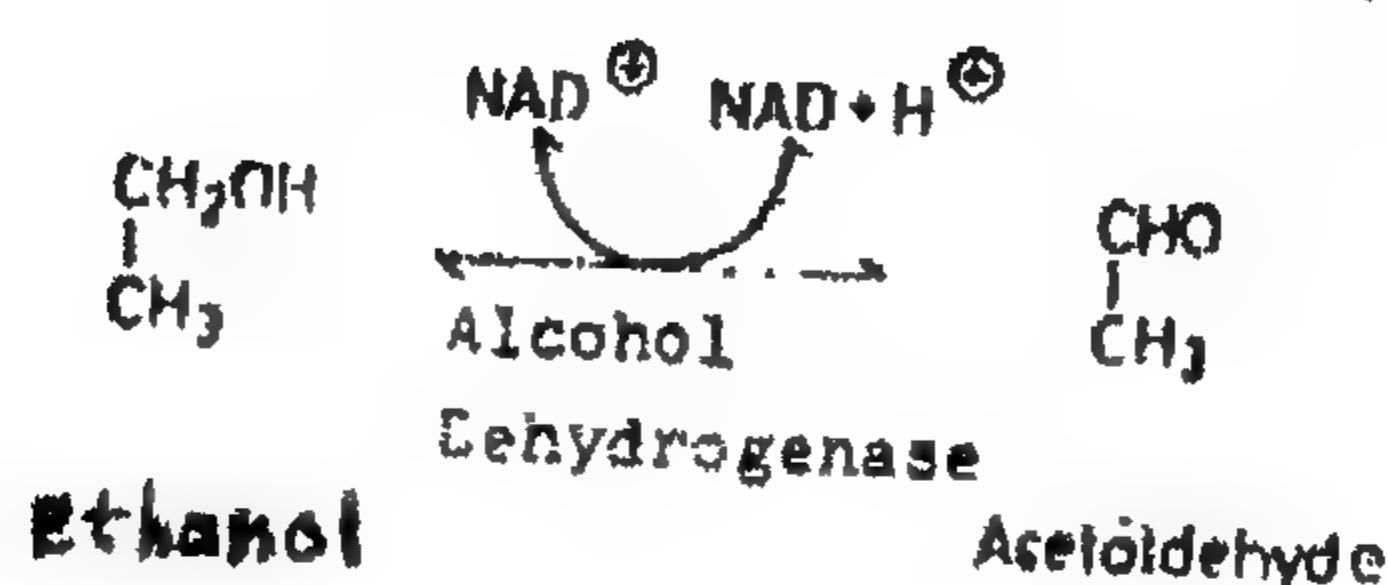
الخطوة الحادية عشرة: يتحول حامض البيروفك إلى استيالدهيد و CO_2 بواسطة الأنزيم Pyruvate decarboxylase.



(15-3) ...

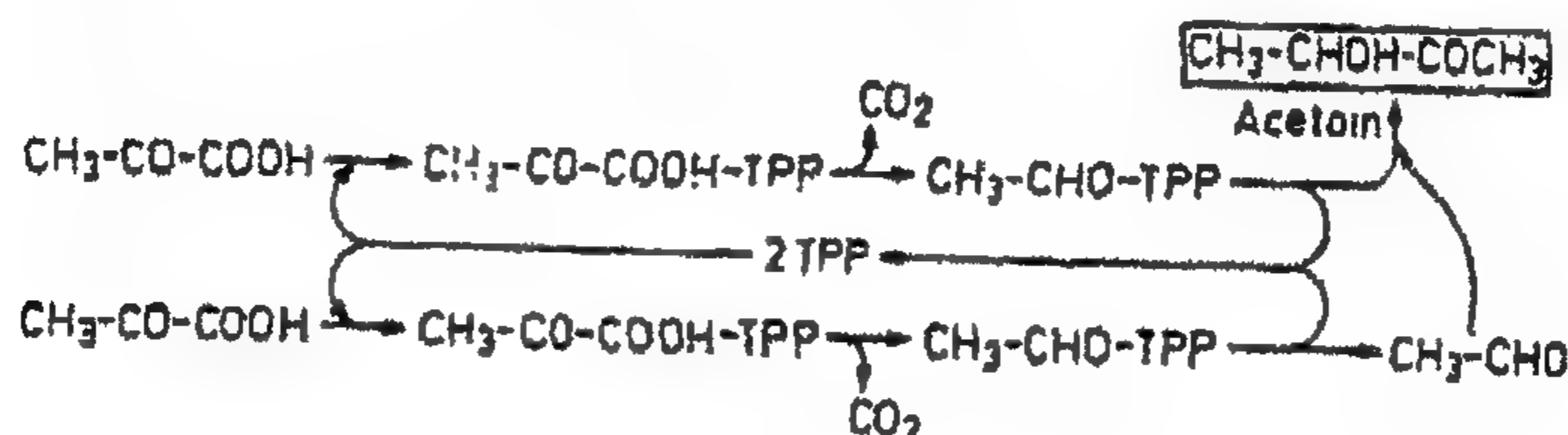
إن هذا التفاعل غير رجوعي (غير عكسي) ويحتاج الأنزيم في عمله إلى Thiamine pyrophosphate (TPP) كتميم أنزيمي Coenzyme وكذلك Mg^{+2} بمثابة تميم العامل Cofactor. يتكون خلال التفاعل بوصفه مئيضة وسطية metabolite Intermediate البيروفات الفعالة pyruvate-TPP وعند انفصال CO_2 عن البيروفات الفعالة يتكون الاستالدهيد الفعال (Active acetaldehyde) (Acetaldehyde-TPP)

الخطوة الثانية عشرة: يتحلل الإستالدهيد الفعال - الناتج عن العمليات الأيضية أعلاه (التي تحصل في الخميرة) - إلى مكوناته من ال TPP والاستالدهيد ويختزل المركب الأخير إلى الإيثانول بفعل الأنزيم Alcohol dehydrogenase وبوجود التميمم الأنزيمي NAD^+ .



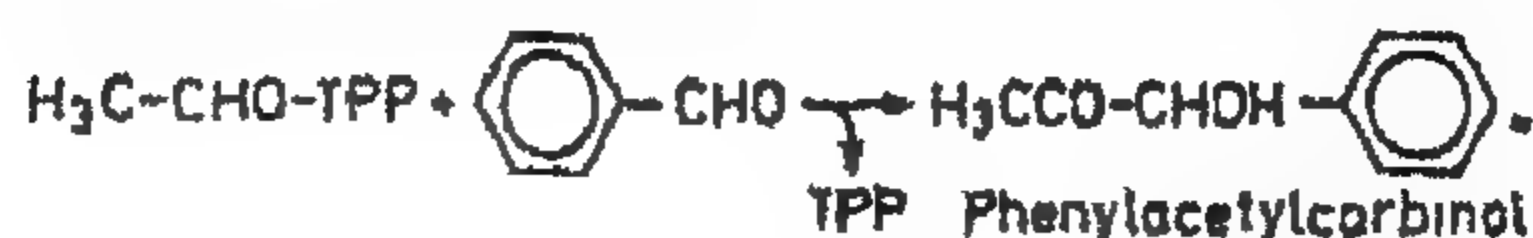
... (16-3)

وعندما يتكاثف جزء الاستالدهيد من الاستالدهيد الفعال Acetaldehyde-TPP مع الاستالدهيد الحر يتكون المركب Acetyl methyl Acetoin (Carbinol) ويمكن توضيح ما تقدم بالمعادلات الآتية:



... (17-3)

إن إضافة الدهيد آخر - غير الاستالدهيد - إلى الخميرة وفي أثناء عملية الإختمار يؤدي إلى تكوين خليط من ال Acyloin فمثلا عند تفاعل الاستالدهيد الفعال مع البنزالدهيد Benzaldehyde يتكون phenylacetyl Carbinol.



... (18-3)

يستخدم المركب Phenylacetyl Carbinol الفعال ضوئياً والمحضر بهذه الطريقة لتخليق العقار L-Ephedrine إذ يشابه في عمله هورمون الإدرينالين فهو يرفع ضغط الدم ويحفز الجهاز العصبي المركزي وينصح بأخذه عادة في حالات الربو Asthma.

يمكن استغلال التفاعل المحفز بالأنزيم Alcohol dehydrogenase والمذكور آنفاً، لتعيين الإيثانول كمياً. عند وجود الخميرة في محيط حامضي ضعيف $5 = \text{PH} \leftarrow 60$

❖ Acyloin: عبارة عن كحولات كيتونية تحوي الثمالات الهيدروكربونية نفسها على جانبي المجموعة $-\text{CH}(\text{OH})-\text{CO}-$ لذلك يعد phenylacetyl Carbinol خليط من الـ Acyloin لوجود ثمالتين مختلفتين على طرفي المجموعة $-\text{CH}(\text{OH})-\text{CO}-$



.. (19.3)

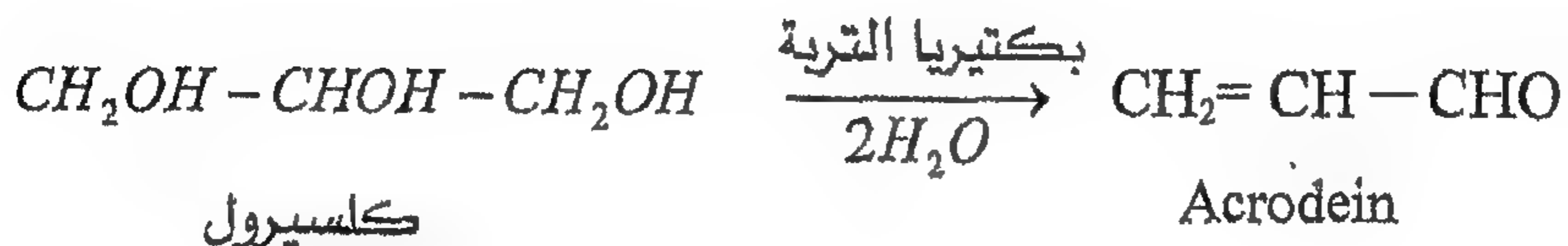
يتجه التفاعل أعلاه من اليمين إلى اليسار أي باتجاه تكوين الإيثانول ولكنه يحصل بالاتجاه المعاكس (أي بتكوين الإستالدهيد) إذ وجدت الخميرة في محيط قاعدي ضعيف. فإذا أضيف المركب Semicarbazide إلى أنبوبة الاختبار الحاوية على داريء قاعدي ضعيف برتبط الاستالدهيد المتكون مع الـ Semicarbazide ويمكن تقدير الناتج- وبالتالي الإيثانول المتفاعل- بصورة كمية.

تستطيع الخميرة استخدام جزء قليل من مكافئات الإختزال الناتجة عن الخطوة السادسة لإختزال كمية قليلة من فسفات الاستون ثنائي الهيدروكسيل الناتج عن الخطوة الخامسة وبذلك يتكون الكلسيرول-3- فسفات ويتم هذا بفعل الأنزيم Glycerol-3-phosphate dehydrogenase (شكل 3-4) وعند

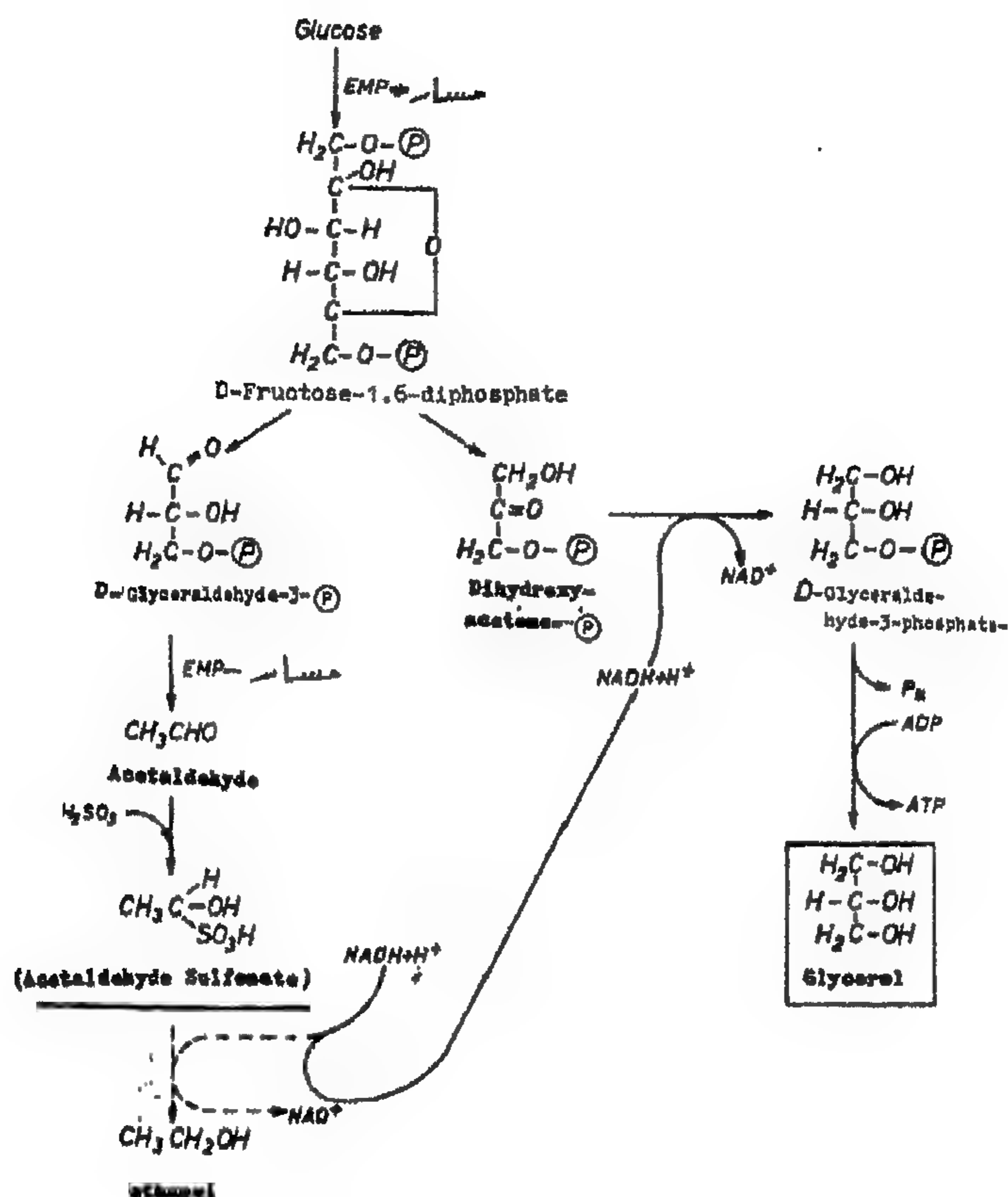
انفصال مجموعة الفسففات من الكلسيروول -3- فسفات يتكون الكلسيروول الذي يوجد دائماً بوصفه ناتجا ثانويا في الإختمار الكحولي ويمكن زيادة تكوين الكلسيروول إلى درجة كبيرة إذا تم التقاط الاستدالدهيد خلال عملية الإختمار بكاشف كاربونيلي Carbonyl reagent وكمثال Sodium hydrogen sulfite .

يمكن توضيح فعل الكبريتيت Sulfite في إنتاج الكلسيروول في الشكل (3-4) حيث يتضح من الشكل توقف سلسلة تفاعلات تكوين الإيثانول عند تكوين Acetaldehyde-Sulfonate واتجاه التفاعلات لتكوين الكلسيروول. وبهذه الطريقة يمكن صناعياً إنتاج الكلسيروول من السكر المختمر إذ يتحول 30% من السكر إلى كلسيروول.

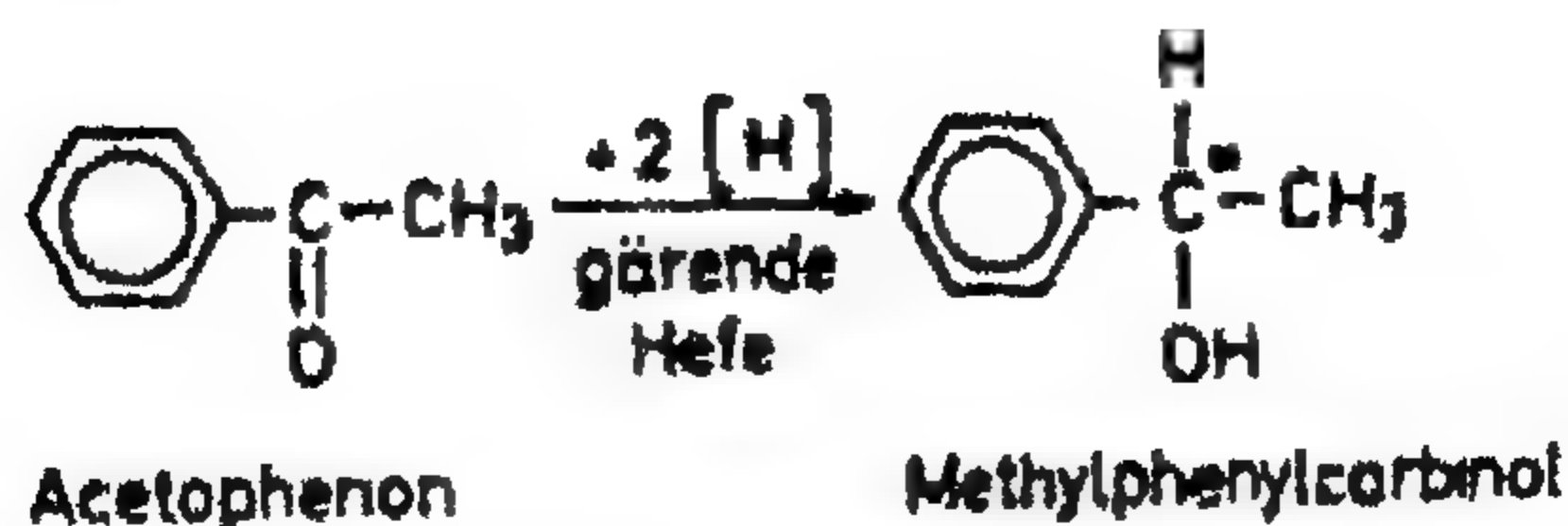
يمكن في بعض الحالات تحويل الكلسيروول المتكون في الإختمار الكحولي إلى مركب الأكرولين Acrolein بفعل بكتيريا التربة كما في المعادلة الآتية:



... (21-3)



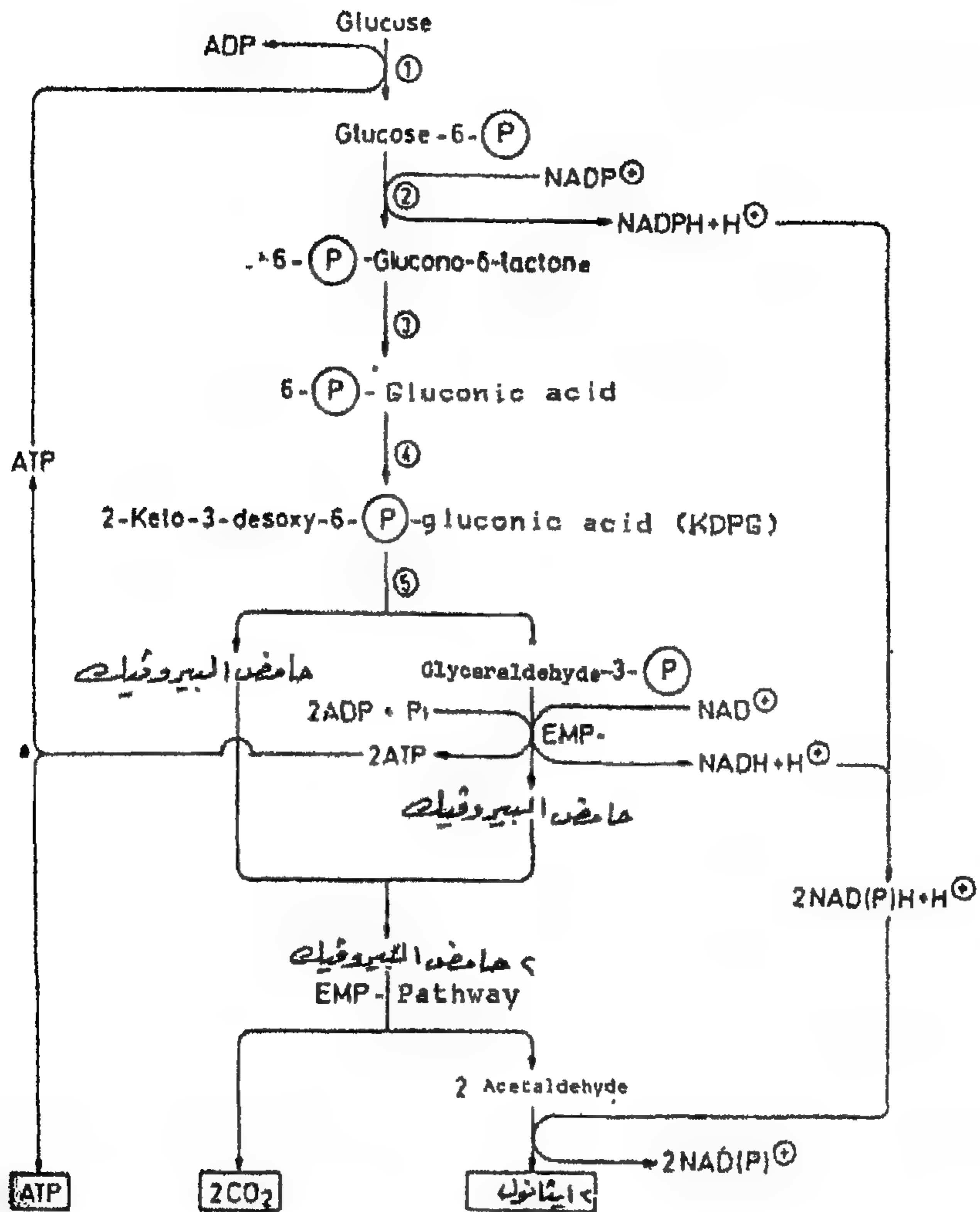
شكل (3-4) فعل الكبريتيت في توجيه الاختمار لتكوين الكلاسيرول عوضاً عن الإيثانول إضافة إلى استخدام مكافئات الاختزال التي تنتج في أثناء الاختمار لاختزال المركبات الفسلاجية المتكونة مثل الإستيالدهيد وفسفات الأستون ثنائي الهيدروكسيل، يمكن استغلال هذه المكافئات لاختزال مركبات غير فسلاجية تضاف بصورة بطيئة في أثناء الاختمار. إن هذا النوع من الهدرجة الحيوية بالخمائر ذو أهمية وخاصة عندما يكون الناتج المختزل فعالاً ضوئياً إذ يتكون واحد فقط من الإيزومرين المتكونين فيما لو تم الاختزال كيميائياً:



... (22-3)

إضافة إلى الخميرة *Saccharomyces cerivisiae* تمكن Lindner من عزل بكتيريا قاعدة على الإختمار الكحولي وسميت آنذاك *Thermobacterium mobile* وتسمى الآن *Pseudomonas Lindneri*. تم عزل هذه البكتيريا من عصير مكسيكي مختمر يسمى *Agavin juice* وينتج منه شراب يدعى *Pulque*. تخمر هذه البكتيريا الكلوكوز بمعادلة إجمالية مماثلة للخميرة. وإضافة إلى ذلك وجد العالمان Entner و Doudoroff عام 1952 إن تقويض الكلوكوز لاهوائياً بواسطة هذه البكتيريا يسلك طريقاً آخر يسمى اليوم بتقويض انترودودوف كما يسمى مسلك KDPG (شكل 3-5) نسبة إلى المركب الوسطي المميز 2-Keto-3-deoxy-6-phosphogluconic acid.

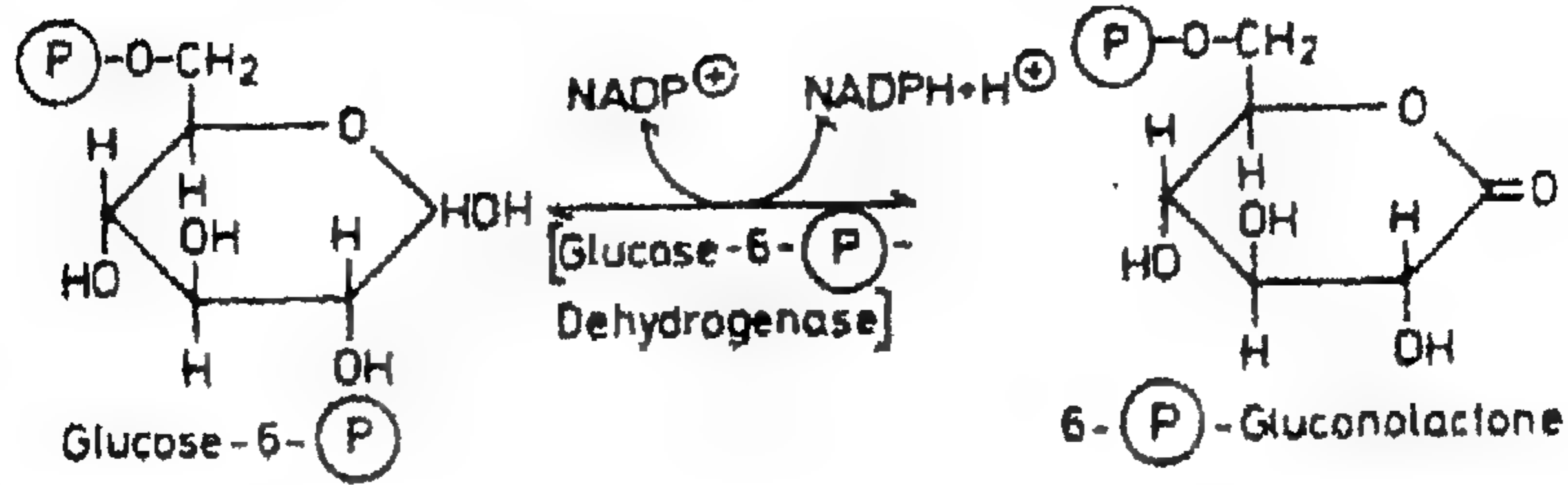
يحصل التقويض بهذا المسلك في عدد محدود جداً من أجناس البكتيريا وينتمي لهذا العدد المحدود، الأجناس *Pseudomonas* و *Xanthomonas* و *Aeromonas*



شكل (3-5) تفويض انتز ودودوروف Entner- Doudoroff للكلوكوز. تكون الطاقة الناتجة بهذا المسلك أقل مما هي عليه بمسلك أمدن - مايرهوف - بارناس إذ ينتج جزيئة واحدة فقط ATP في مسلك أمدن - مايرهوف - بارناس.

يمكن توضيح تفاعلات مسلك انتز ودودوروف (ITDPG) كما يأتي:
الخطوة الأولى: يبتدىء تفويض الكلوكوز بتحويله إلى كلوكوز-6-فسفات كما في مسلك أمدن - مايرهوف - بارناس EMP.

الخطوة الثانية: تزال ذرتا هيدروجين من الكلوكوز -6- فوسفات لتكوين 6-phosphogluconolactone.

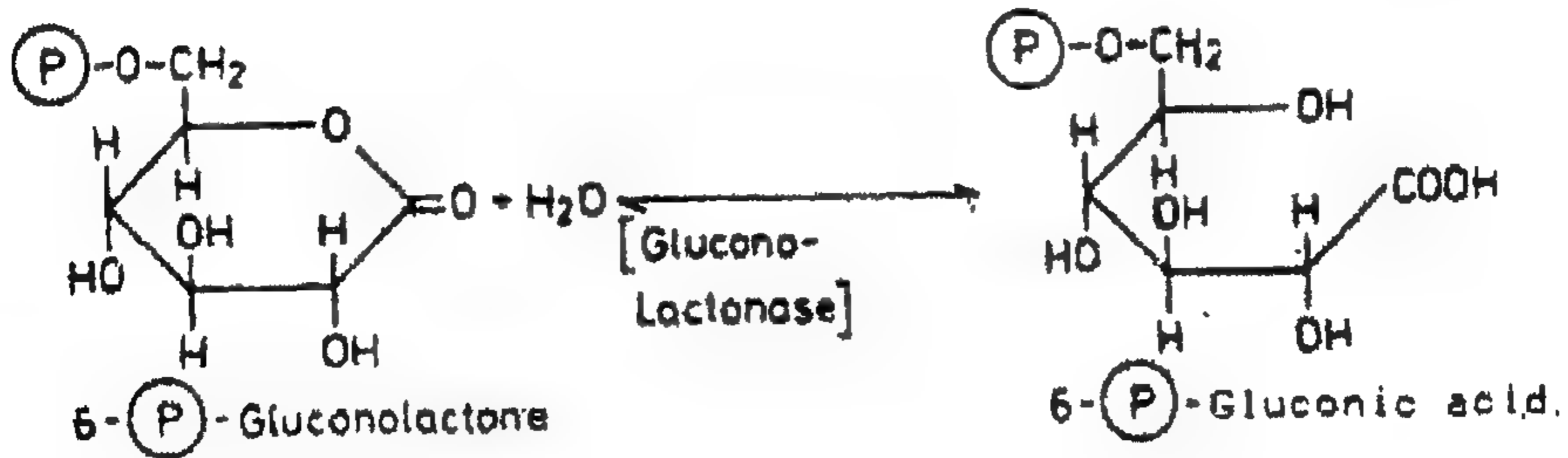


.... (23-3)

يتضح من المعادلة أعلاه بأن التميم الأنزيمي للتفاعل NADP^+ ويظهر الأنزيم Glucose-6-phosphate dehydrogenase تخصصاً شديداً للركيزة كلوكوز-6- فوسفات.

الخطوة الثالثة: يتحول المركب 6-phosphogluconolactone إلى 6-phosphogluconic acid

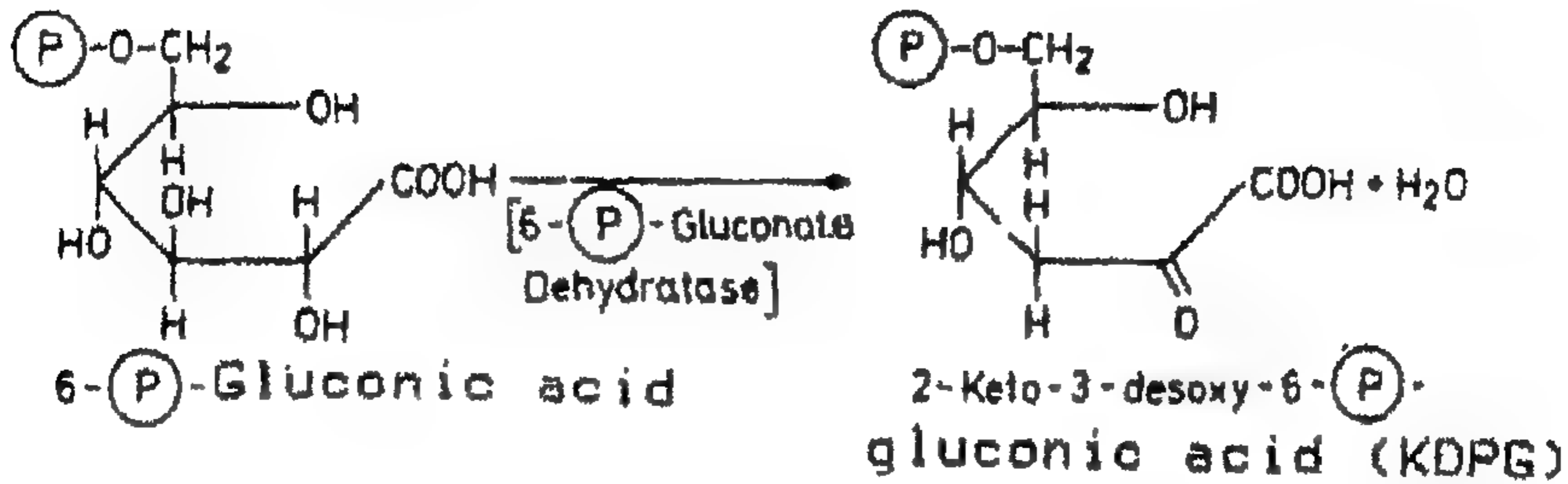
ويحصل التفاعل بسرعة بواسطة الأنزيم Gluconolactonase:



.... (24-3)

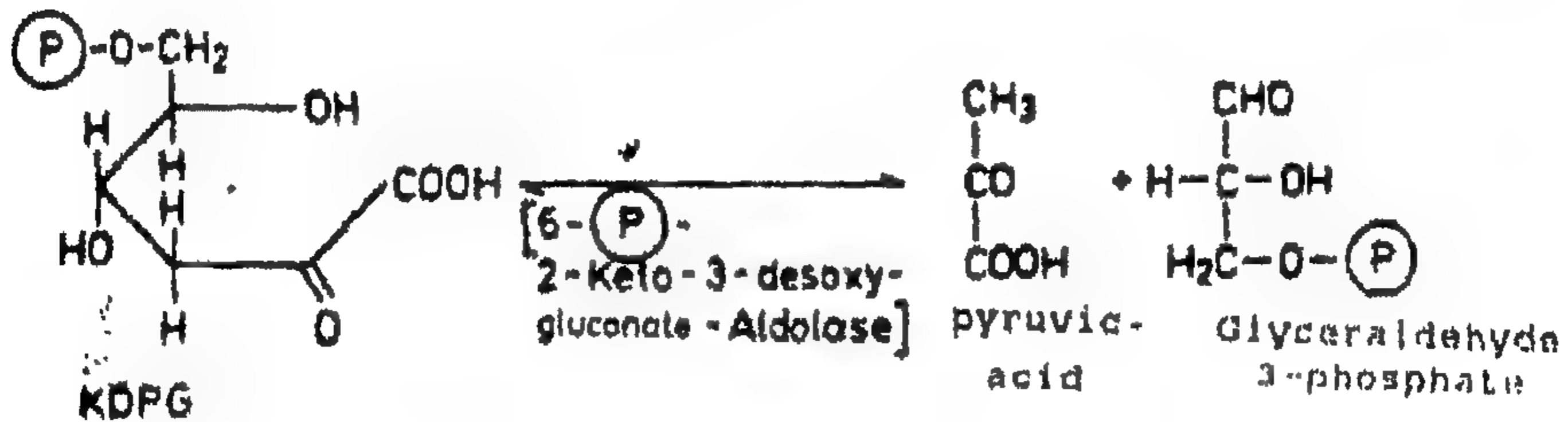
يستطيع الأنزيم المذكور مهاجمة المركبين D-Glucono- δ -lactone و D-Lactone- δ -Glucono إضافة إلى المركب 8-phosphoglucono- δ -lactone كما أنه يحتاج إلى أيونات Mg^{+2} أو Mn^{+2} أو CO^{+2} بوصفها تميمات العامل.

الخطوة الرابعة: يمثل تحول 6-phosphogluconic acid إلى KDPG
 Keto-3-deoxy-6-phospho-D gluconate
 بفعل الأنزيم Phosphogluconate dehydratase الذي يعد الأنزيم المرشد لمسلك
 KDPG



.... (25-3)

الخطوة الخامسة: يتحول المركب KDPG بفعل أنزيم "قائد" Key
 enzyme آخر في هذا المسلك 2-Keto-3-deoxygluconate -aldolase إلى
 بيروفات وكلاسييرالدهيد-3-فسفات، ولهذا الأنزيم تخصص عال جدا للركيزة



.... (26-3)

تستطيع ناتجا التفاعل وهما البيروفات وكلاسييرالدهيد-3-فسفات
 التحول إلى CO₂ وايتانول عن طريق مسلك امدن-مايرهوف-بارناس EMP.

3-1-1-2 الاختمار اللاكتيكي

تستطيع بعض أجناس البكتريا أن تخمر الكلوكوز لاهوائيا إلى حامض اللاكتيك ويستغل الاختمار اللاكتيكي للحصول على منتجات الألبان المختلفة وفي المعجنات الحامضية ولتحضير Saur kraut كما يستغل الإنتاج الصناعي لحامض اللاكتك في تكنولوجيا الأغذية وفي الصيدلية.

لحامض اللاكتيك دور بارز من الناحية الفسلجية في الحيوانات حيث يتكون في العضلات عند شحة الأوكسجين فيها وكمثال عند التمرين المجهد. تتشابه تفاعلات الإختمار اللاكتيكي في العضلات والبتكيريا إلا أنها تختلف عن الإختمار الكحولي في الخميرة ذلك أن البيروفات تختزل مباشرة في الإختمار اللاكتيكي أو تحلل السكر Glycolysis وتتحول إلى حامض اللاكتك بينما تعاني من إزالة مجموعة الكربوكسيل Decarboxylation وتتحول إلى استالدهيد في الإختمار الكحولي.

تفتقر الحيوانات ومعظم البكتريا إلى الأنزيم المحفز للتفاعل المذكور والمسمى decarboxylase pyruvate وبهذا تكون غير قادرة على الإختمار الكحولي.

أنواع الإختمار اللاكتيكي: هناك نوعان من الإختمار اللاكتيكي وهما:

أ. الإختمار اللاكتيكي متماثل التخمر

Homofermentative lactic acid fermentation.

ب. الاختمار اللاكتيكي متغاير التخمر

Heterofermentative lactic acid fermentation

أ- الاختمار اللاكتيكي متماثل التخمر:

يحصل هذا النوع من الاختمار في بعض أجناس البكتريا مثل Lactobacillus و Sporolactobacillus حيث تقوم هذه الأجناس بدرجة رئيسية

- بتخمير السكريات سداسية الكربون Hexoses إلى حامض اللاكتيك وتتكون كميات ضئيلة جدا من مركبات أخرى مثل الأحماض المتطايرة والإيثانول وحامض الفيومارك و CO_2 . تستطيع البكتريا *Lactobacillus delbruckii* تحويل 95% من السكر المختمر إلى حامض اللاكتيك ويمكن المعادلة الإجمالية لهذا النوع من الإختمار كما يأتي:



...(3-27)

تمثل التفاعلات الوسطية للاختمار اللاكتيكي تماثل التخمر نظيراتها في الإختمار اللاكتيكي في مخطط EMP ابتداء من تكوين الكلوكوز-6-فسفات وانتهاء بتكوين حامض البيروفك. أما الخطوة التالية في الإختمار اللاكتيكي وهي تحول حامض البيروفك إلى حامض اللاكتيك فهي مميزة لهذا الإختمار وتحصل بمساعدة نوعين من الإنزيمات المتخصصة فراغيا، أحدهما Lactate dehydrogenase - (+) - L- ويحفز التفاعل الآتي:



وثانيهما D- (-) Lactate dehydrogenase ويحفز التفاعل الآتي:



يتكون في الاختمار اللاكتيكي عادة مزيج رزمي Racemic mixture دلالة على وجود كلا النوعين من الأنزيمات. إلا أن بعض أنواع البكتريا العقدية Streptococcus تنتج فقط الإيزومر L(+) Lactic acid كما أن بعض أنواع البكتريا اللبنية Lactobacillus تنتج فقط D (-) Lactic acid على عكس الحالة مع البكتريا plantarum Lactobacillus التي تنتج كلا الإيزومرين. وفي بعض الأحيان يستطيع الكائن المجهرى ذاته تكوين ايزومرات مختلفة لحامض

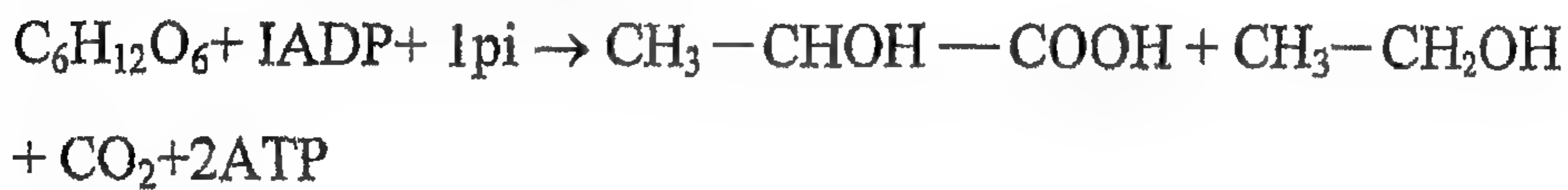
اللاكتك اعتمادا على الوسط الزراعي. أما في عضلات الحيوانات فإن الازومر المتكون يكون Lactate dehydrogenase الموجود في اللبائن إلى خمسة ايزوانزيمات تحفز جميعها تفاعلا كيميائيا واحدا إلا أنها تختلف في خصائصها الحركية.

ب- الاختمار اللاكتيكي متغاير التخمر:

مثل في هذا النوع من الإختمار إضافة إلى حامض اللاكتك، مركبات أخرى جانبية مثل الإيثانول وحامض الخليك و CO_2 والمانيت Mannit ويقسم على قسمين: الأول ينتج عنه غاز CO_2 والثاني لا يتكون فيه هذا الغاز. يحصل النوع الأول في *Lactobacillus*

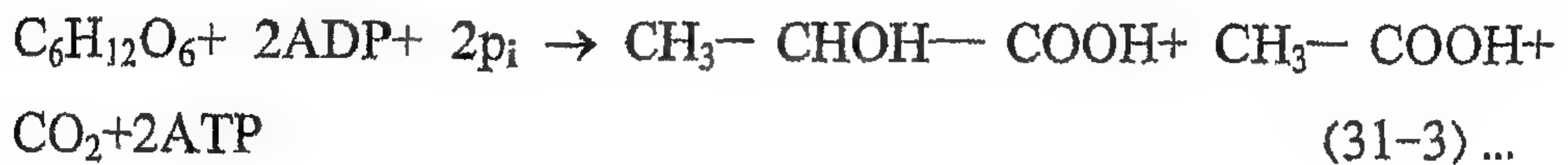
Brevis و *Lenconostoc mesenteroides* وتمثل المعادلات التالية التفاعل الإجمالي في كل من الكائنين المجهرين:

Leuconostoc mesenteroides:



... (30-3)

Lactobacillus brevis:



... (31-3)

إن ما يميز الإختمار اللاكتيكي متغاير التخمر هو أن تقويض الكلوكوز يحصل بتكوين 6-phosphogluconic acid بطريقة مشابهة لمسلك فوسفات البنزوز وليس عن طريق امدن- مايرهوف- بارناس لتحلل السكر Glycolysis وذلك لإفتقار هذه الأحياء المجهرية إلى أنزيم الالدولاز Aldolase

ويمثل الشكل (3-6) الاختمار اللاكتيكي متفاير التخمير في البكتريا
Lactobacillus brevis , Leuconostoc mesenteroides

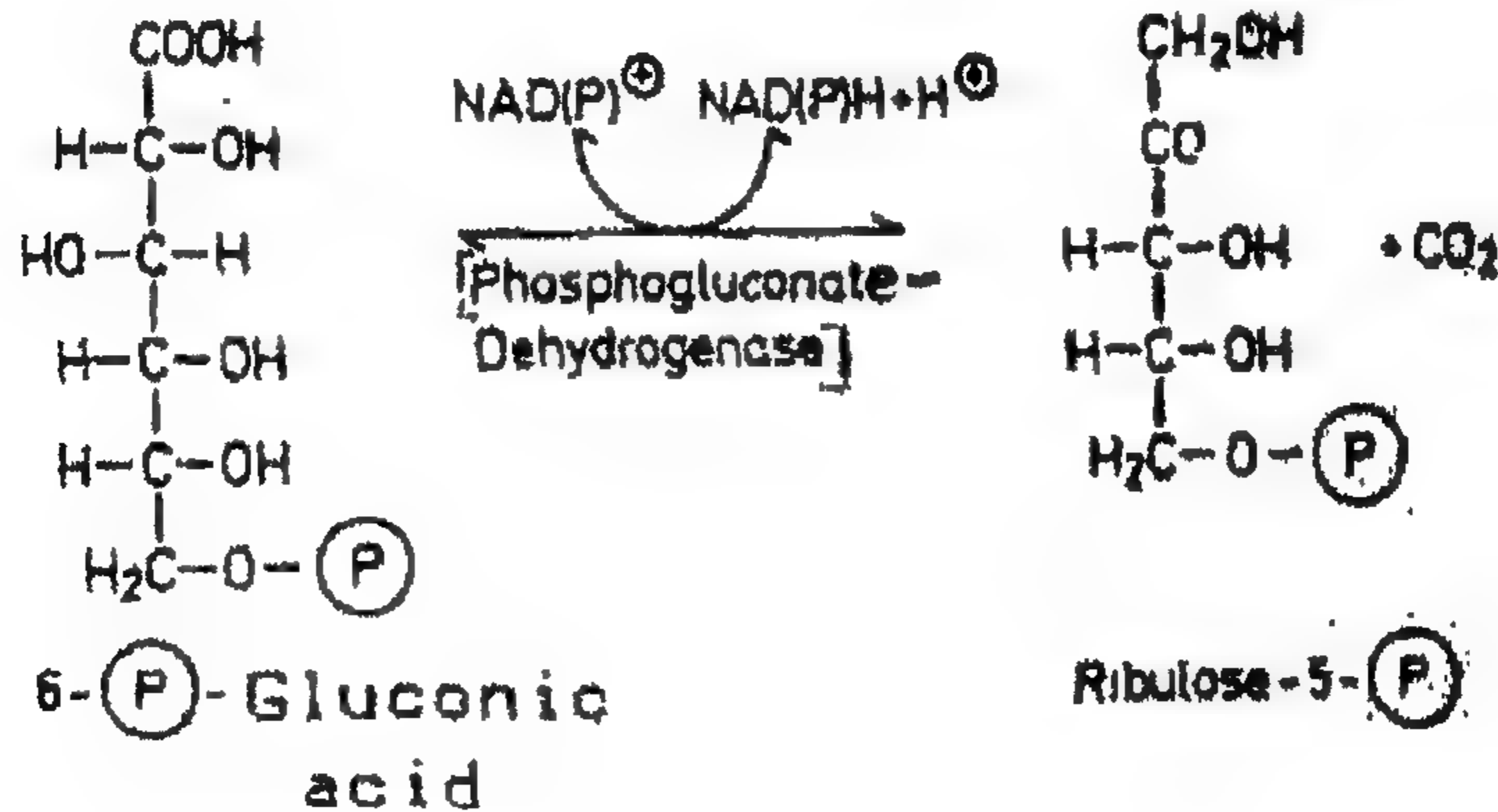
أما خطوات هذا النوع من الإختمار فكما يأتي:

الخطوة الأولى: فسفرة الكلوكوز-6- فسفات بالطريقة المألوفة.

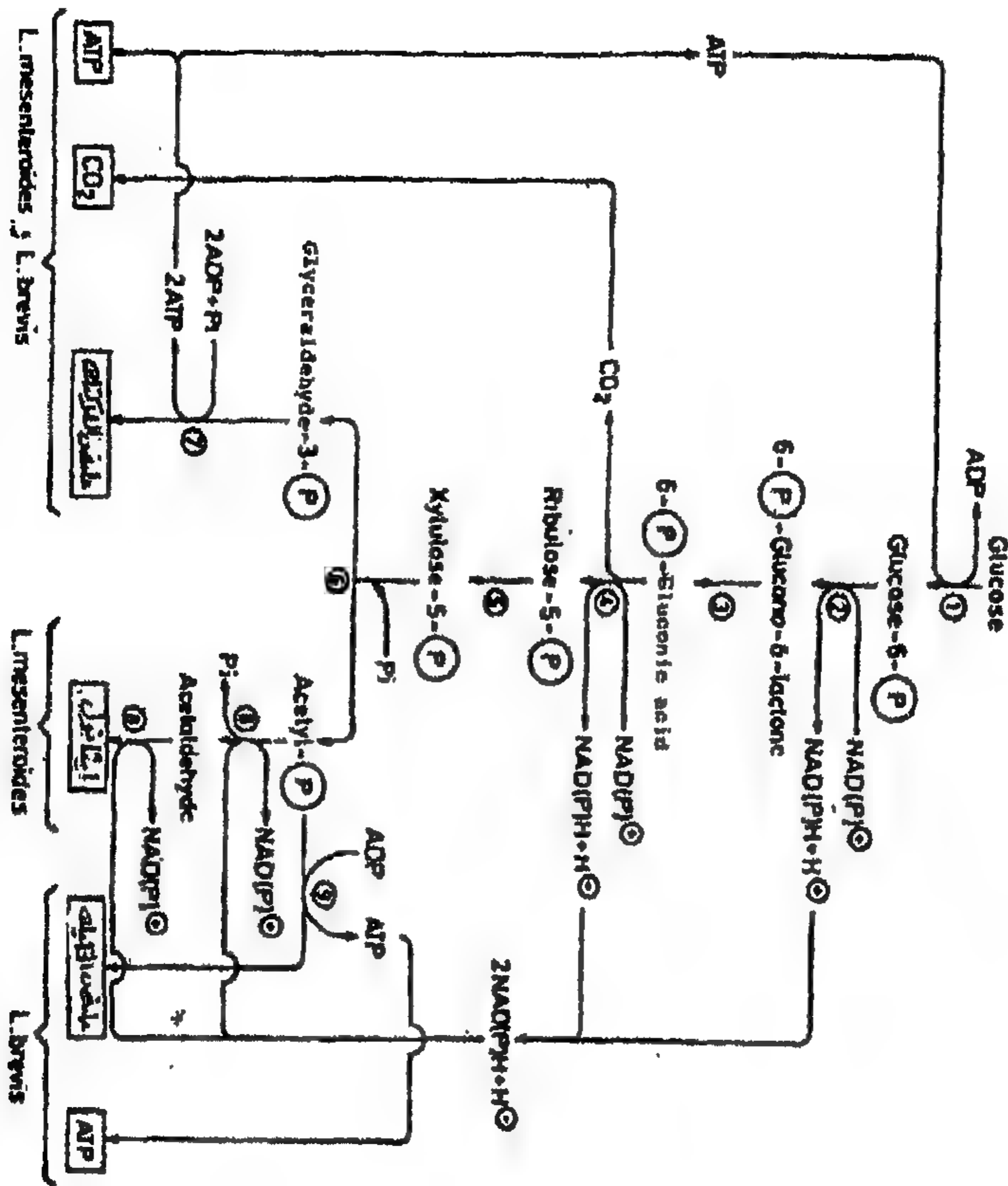
الخطوة الثانية: إزالة الهيدروجين من كلوكوز-6- فسفات وتحويله إلى
6-phosphogluconolactone (شكل 2-6 التفاعل الثاني).

الخطوة الثالثة: التحلل المائي للمركب 6-phosphogluconolactone إلى
6-phosphogluconic acid إن هذه الخطوة متماثلة مع الخطوة الثالثة في مسلك
KDPG بكل تفاصيلها.

الخطوة الرابعة: وهي الخطوة المميزة لهذا المسلك حيث يتحول
6-phosphogluconic acid إلى Ribulose 5-phosphate - 5 - Ribulose بإزالة
الكاربوكسيل بالأنزيم (6-phosphogluconate dehydrogenase)
(decarboxylating)



(32-3)



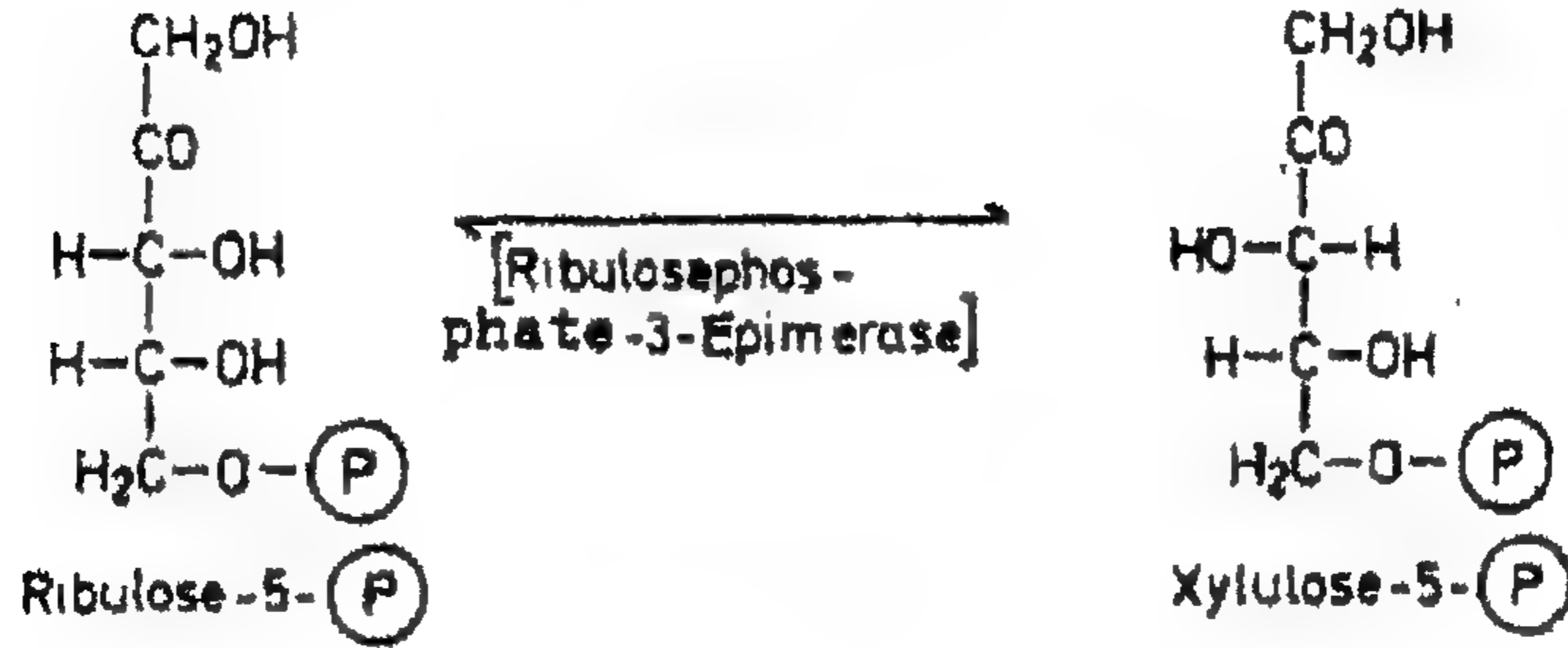
شكل 3-6

وتستخدم مكافئات الإختزال الناتجة في هذه الخطوة في مراحل أخرى
تالية في المسلك.

إن الأنزيم المحفز للتفاعل 6-phosphogluconate dehydrogenase والموجود في البكتريا L.mesenteroids يستطيع استخدام NAD^+ حوالي 25 مرة أفضل من $NADP^+$ بينما أنزيمات مصادر أخرى تستطيع استخدام $NADP^+$ فقط.

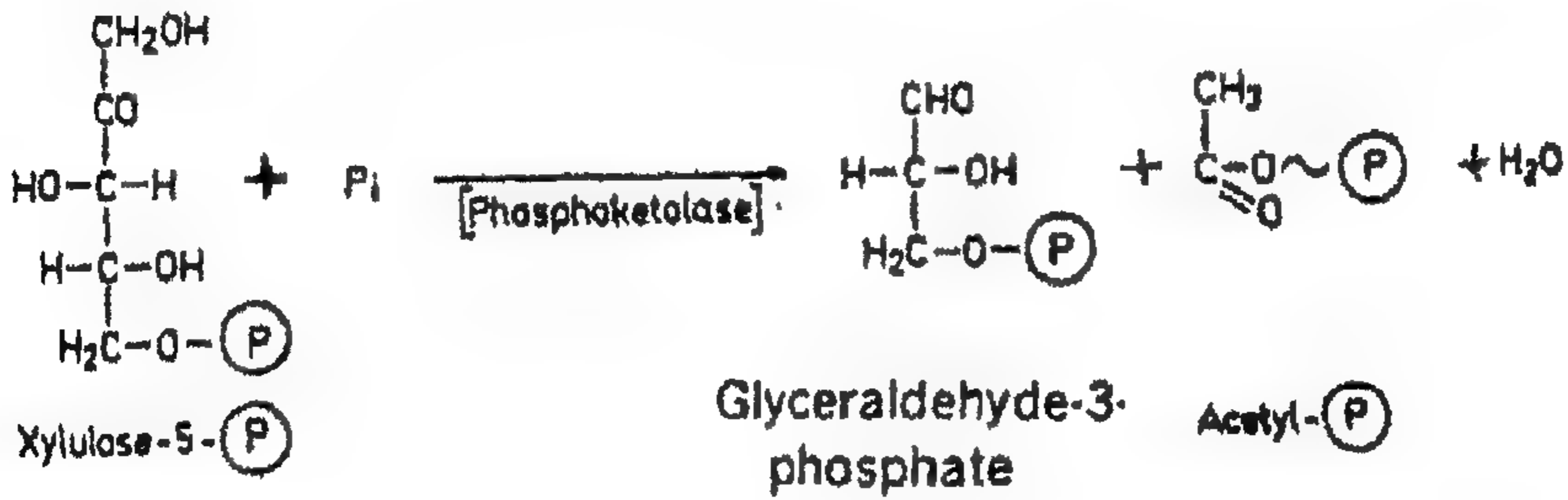
تتخصص جميع هذه الأنزيمات 6-phosphogluconate dehydrogenase تخصصا شديدا للركيزة 6-phosphogluconate

الخطوة الخامسة: يتحول المركب Ribulose-phosphate-5 إلى Ribulose phosphate-3-epimerase بواسطة الأنزيم وهذا الأنزيم شديد التخصص للركيزة ولا يعمل على المركب Ribulose-1.5-diphosphate.



.... (33-3)

الخطوة السادسة: وتتم بوجود الأنزيم phosphoketolase والفسفات اللاعضوية وينتج عن التفاعل Glyceraldehyde 3-phosphate و Acetyl phosphate



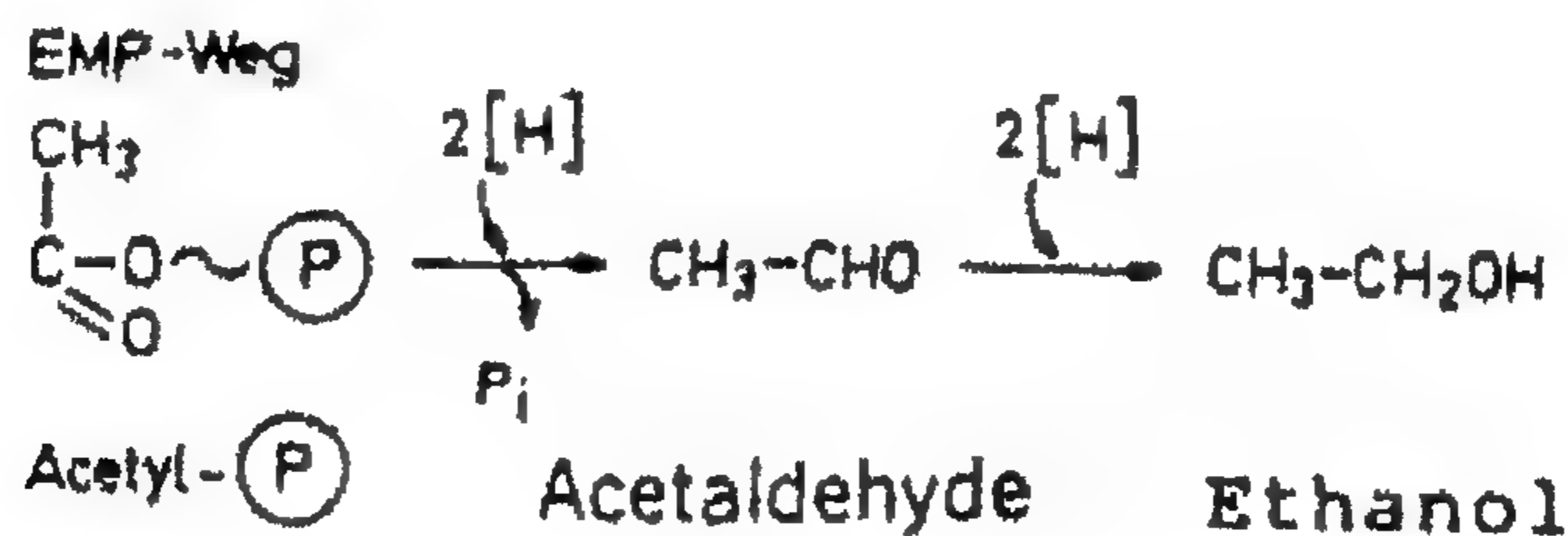
.... (34-3)

إن المركب Acetyl Phosphate عالي الطاقة ويمكن تخزين هذه الطاقة في تفاعل لاحق بشكل ATP أي بالفسفرة على مستوى الركيزة كما في البكتريا L.brevis (شكل 3-6).

يمكن لأنزيم phosphoketolase الموجود في البكتريا *L.mesenteroides* أن يستخدم المركبات Fructose -6-phosphate و Hydroxy pyruvate بمثابة ركائز إضافة إلى Xylulose -5-phosphate كما يمكن استعاضة الفسفات بالارسنات Arsenate.

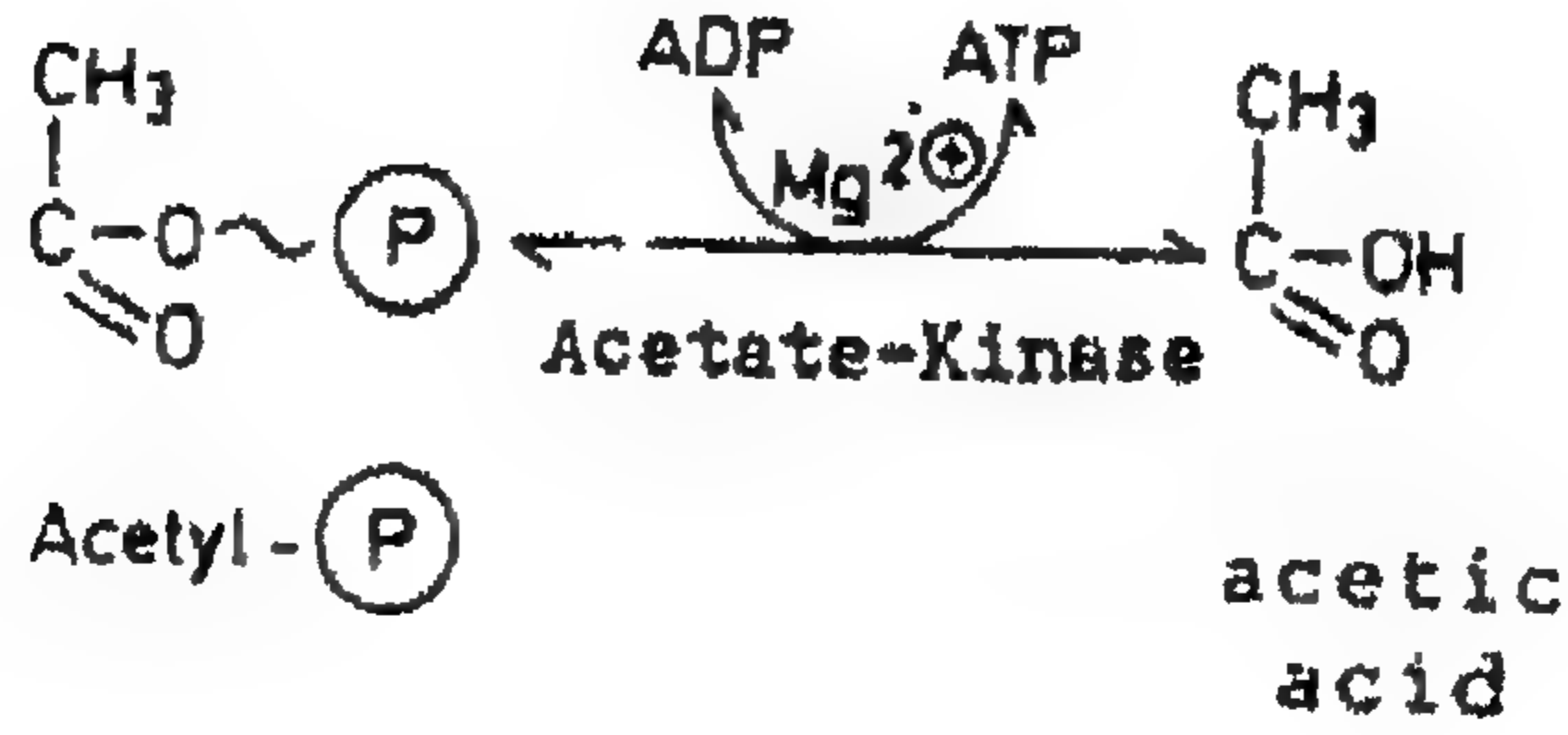
الخطوة السابعة: يتحول الكلسرالدهيد-3- فسفات إلى حامض اللاكتك بالتفاعلات المعروفة في مسلك EMP ويستخدم جزء من الطاقة الناتجة (انظر الشكل 3-3) لفسفرة الكلوكوز.

الخطوة الثامنة: يتم اختزال المركب Acetylphosphate - بعد انفصال الفسفات اللاعضوية منه- إلى الاستالدهيد ثم إلى الإيثانول ويستخدم لهذا الغرض مكافئات الاختزال الناتجة عن أكسدة كلوكوز-6- فسفات و6- فسفوكلوكونات 6-phos phoglyconate وحيث لا تتوافر مكافئات الاختزال عند اختتام السكريات خماسية الكربون، يتراكم حامض الخليك ولا تتوافر معلومات كافية حاليا عن الأنزيمات التي تشارك في اختزال Acetyl-p إلى الإيثانول.



.... (35-3)

الخطوة التاسعة: تتم هذه الخطوة في البكتريا *Lactobacillus brevis* إذ تنتقل الطاقة العالية للمركب Acetyl Phosphate بواسطة الأنزيم Acetate Kinase إلى المركب ADP وبذلك يتكون المركب ATP بالفسفرة على مستوى الركيزة:



(36-3)

نلاحظ إذن بأنه في الإختمار اللاكتيكي متغاير التخمر الذي يحصل في *L.brevis*، يمكن الحصول على ربح مضاعف من الـ ATP عند المقارنة بما يحصل في *L.mesenteroides* إضافة إلى ذلك لا تستخدم جميع مكافئات الإختزال وبذلك يمكن استغلالها لإختزال الكلوكوز إلى المانيت Mannite الذي يتم بتحول الكلوكوز إلى المانوز أولاً بفعل أنزيم ايزومراز ثم إختزال مجموعة الألدهيد في المانوز إلى كحول في المانيت $(\text{C}^1\text{H}_2\text{OH} \dots \text{C}_6\text{H}_2\text{OH})$.

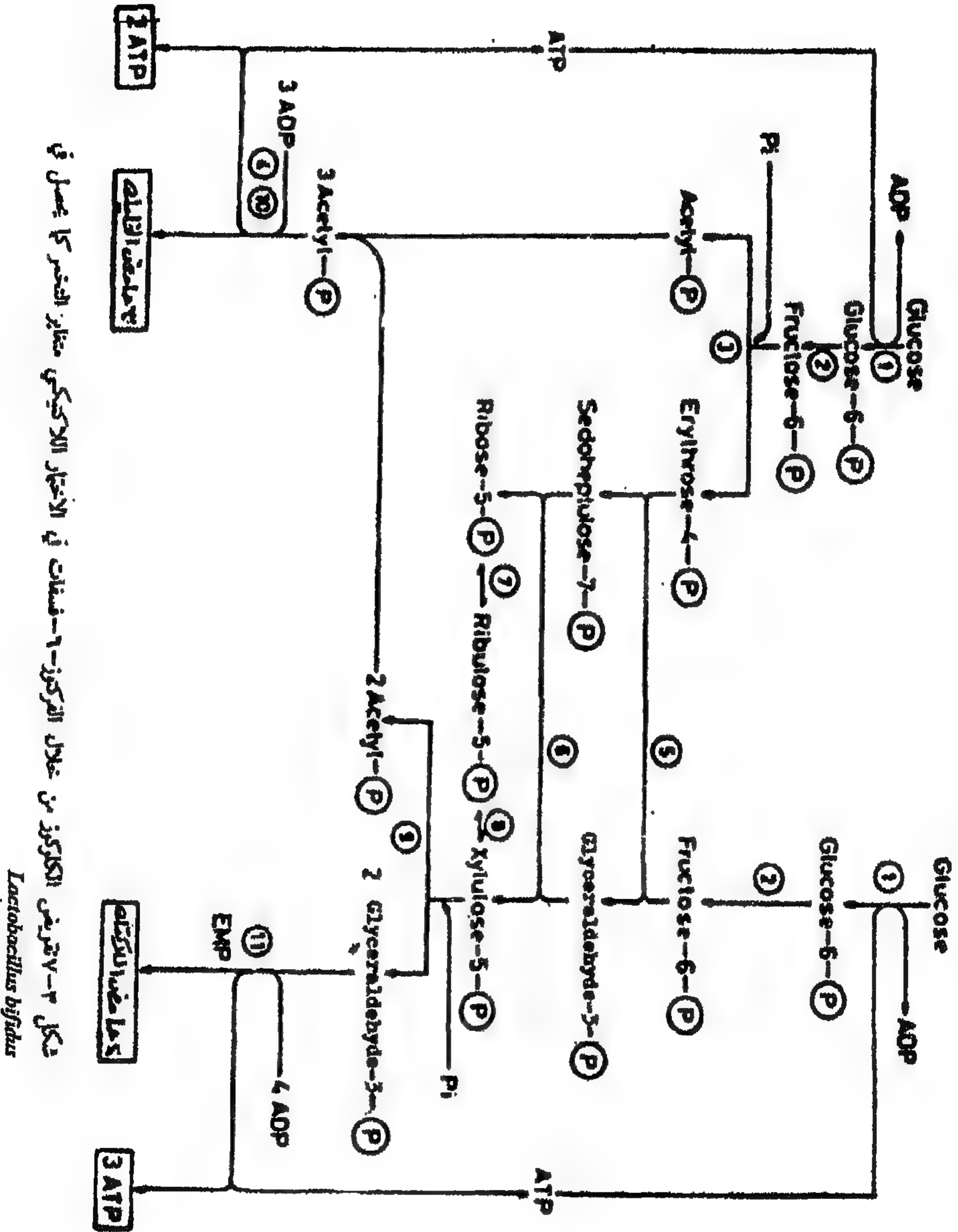
أما الإختمار اللاكتيكي متغاير التخمر الذي لا ينتج عنه غاز CO_2 فيحصل في البكتريا اللاهوائية *Lactobacillus bifidus* وتوضح المعادلة الإجمالية التالية مجرى هذا التخمر.



(37-3)

يخمر هذا النوع من البكتريا الكلوكوز عبر المركب فركتوز-6-فسفات كما في الشكل (3-7)، إلا أنه لا يمكن تحول الفركتوز إلى فركتوز-1، 6-ثنائي الفسفات كما يحصل في مسلك EMP لإفتقار هذه البكتريا للأنزيم Phosphofructo kinase وعلى الرغم من احتوائها أنزيم

الالدولاز عكس الأحياء المجهرية الأخرى في الإختصار اللاكتيكي متغاير التخمر. وفيما يأتي تفاصيل التفاعلات الوسطية للتقويض:

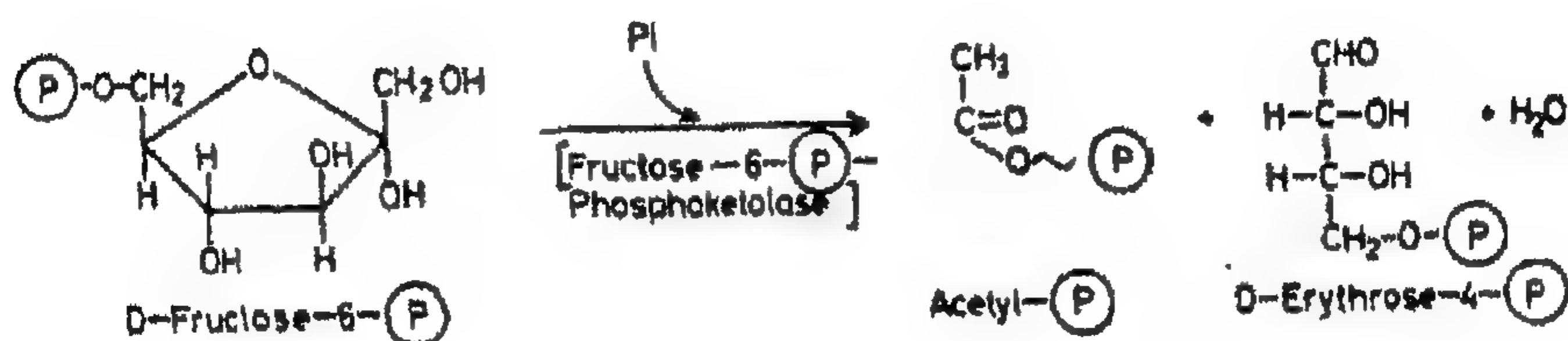


شكل ٧-٣-١: دورة التخمر في *Lactobacillus bifidus*

الخطوة الأولى: تحويل الكلوكوز إلى كلوكوز-6-فسفات كما في مسلك EMP.

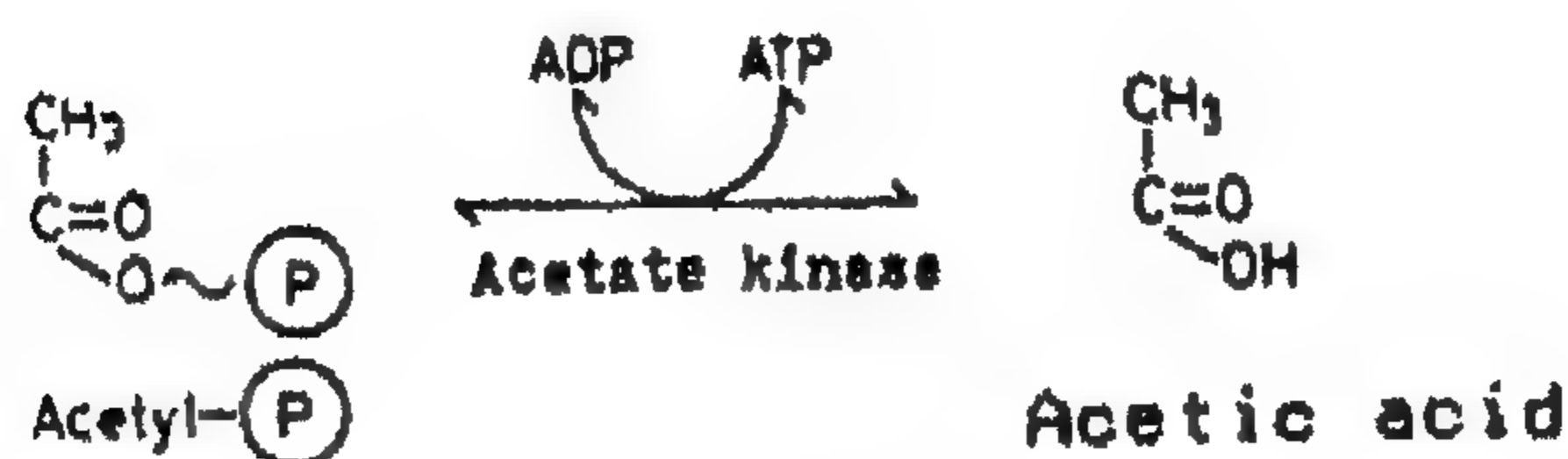
الخطوة الثانية: تحويل كلوكوز-6-فسفات إلى فركتوز-6-فسفات كما في مسلك EMP.

الخطوة الثالثة: وتعد خطوة مميزة للمسلك يتم فيها تحول جزيئة فركتوز-6-فسفات بواسطة الأنزيم Fructose-6-phospho ketolase وبوجود الفسفات اللاعضوية Pi إلى D-Erythrose-4-phosphate , Acetylphosphate



.... (38-3)

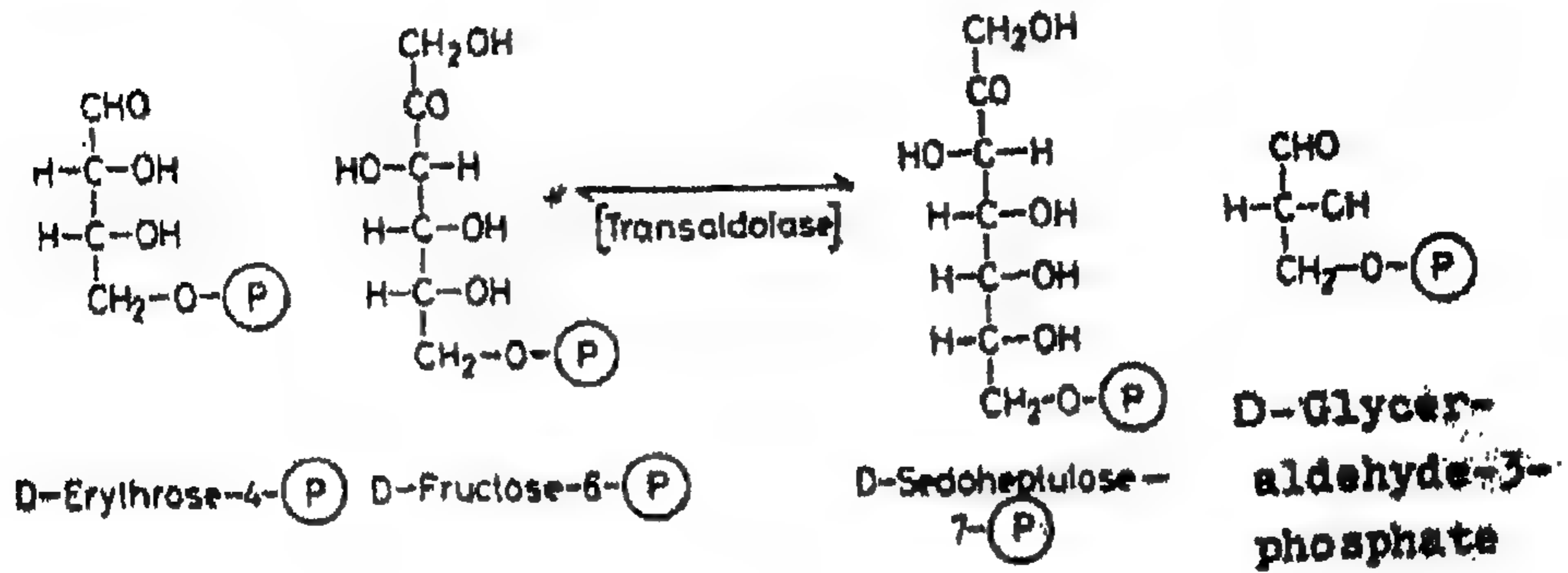
الخطوة الرابعة: يحفز الأنزيم Acetate-kinase تكوين جزيئة ATP من المركب Acetylphosphate الذي يتحول بدوره إلى حامض الخليك بوصفه ناتجا نهائيا للاختصار:



.... (39-3)

الخطوة الخامسة: تتفاعل جزيئة Erythrose-4-phosphate ناتجة عن الخطوة الثالثة مع جزيئة فركتوز-6-فسفات بفعل الأنزيم Transaldolase

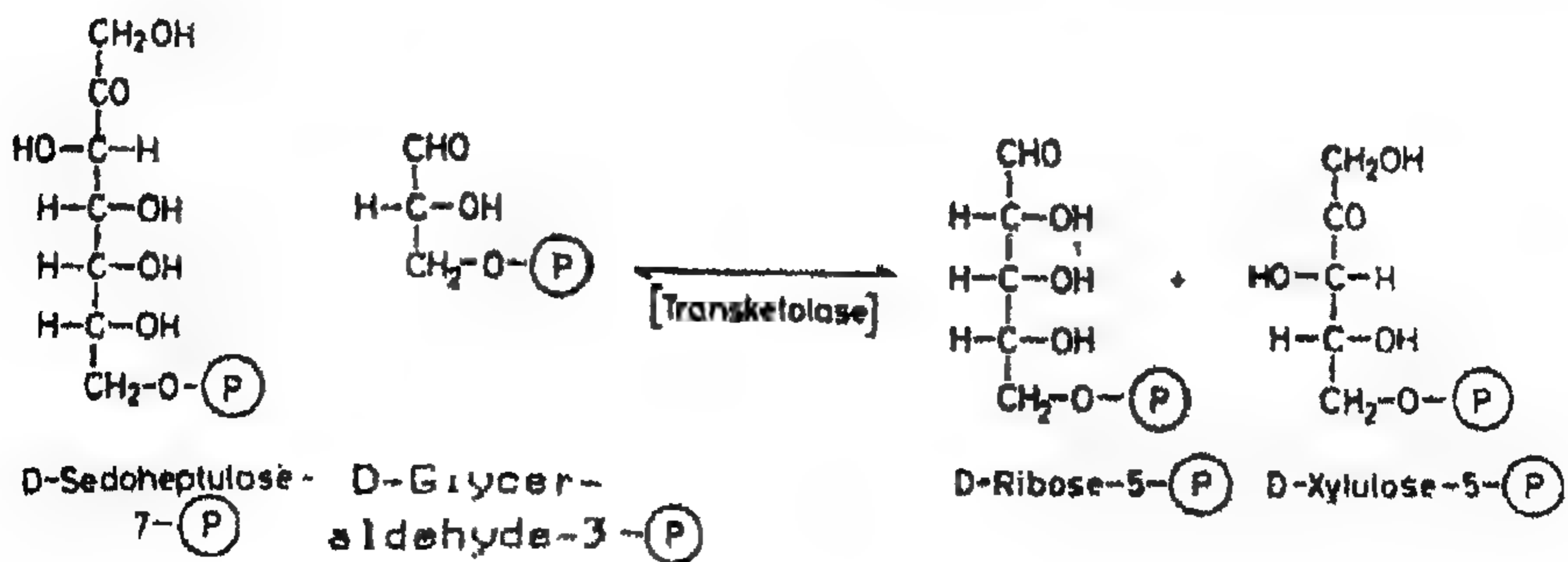
لتكوين دي-كاسر الدهيد-3-فسفات و D-Sedoheptulose -7-phosphate
إذ يتم نقل جزء ثنائي هيدروكسيل الاستون من المركبوز-6-فسفات إلى
المركب ارثروز-4-فسفات:



(40-3)

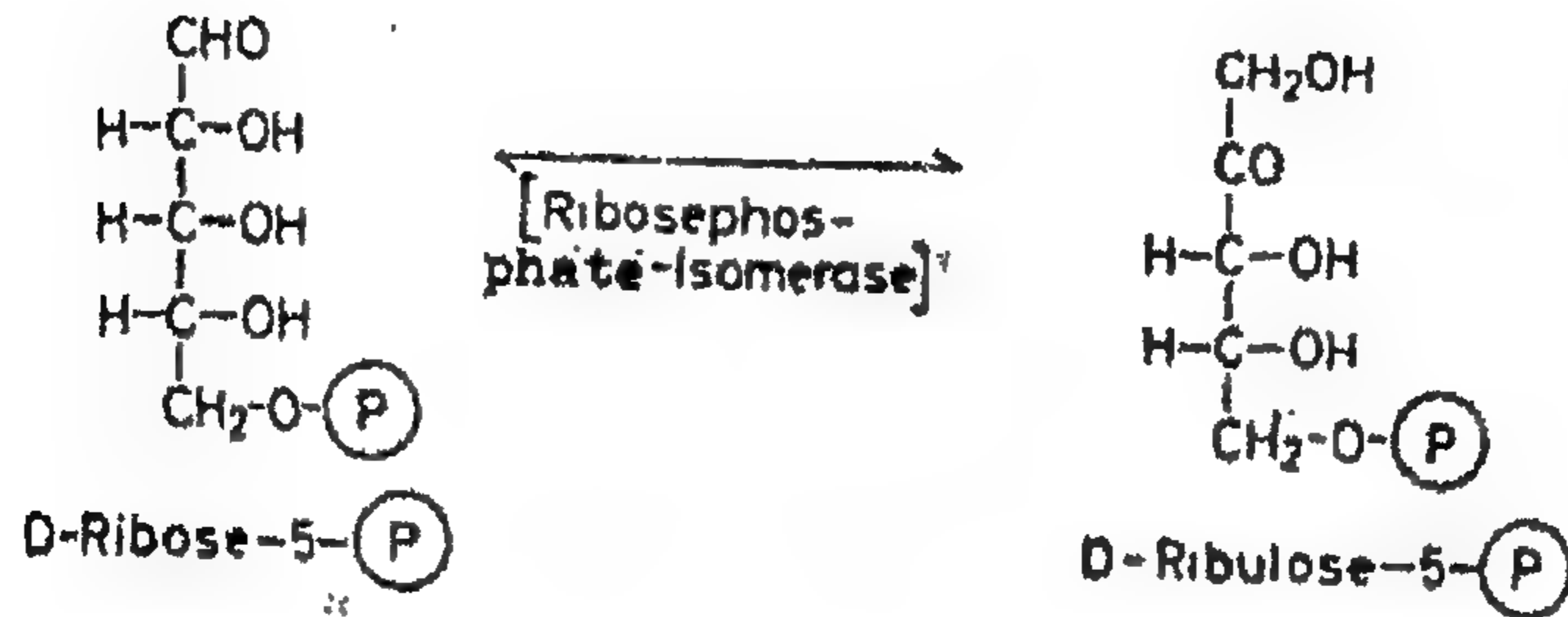
تمثل هذه الخطوة مقطعا من مسلك فسفات البنتوز Pentose-phosphate
Pathway كما هي الحالة مع الخطوة السادسة.

الخطوة السادسة: يقوم الأنزيم Transketolase بنقل جزء كلايكول
الدهيد Glycolaldehyde من جزيئة Sedoheptulose-7-phosphate إلى جزيئة
كاسر الدهيد-3-فسفات مؤديا إلى تكوين المركبين D-xylulose-5-
phosphate و D-Ribose5- Phosphate.



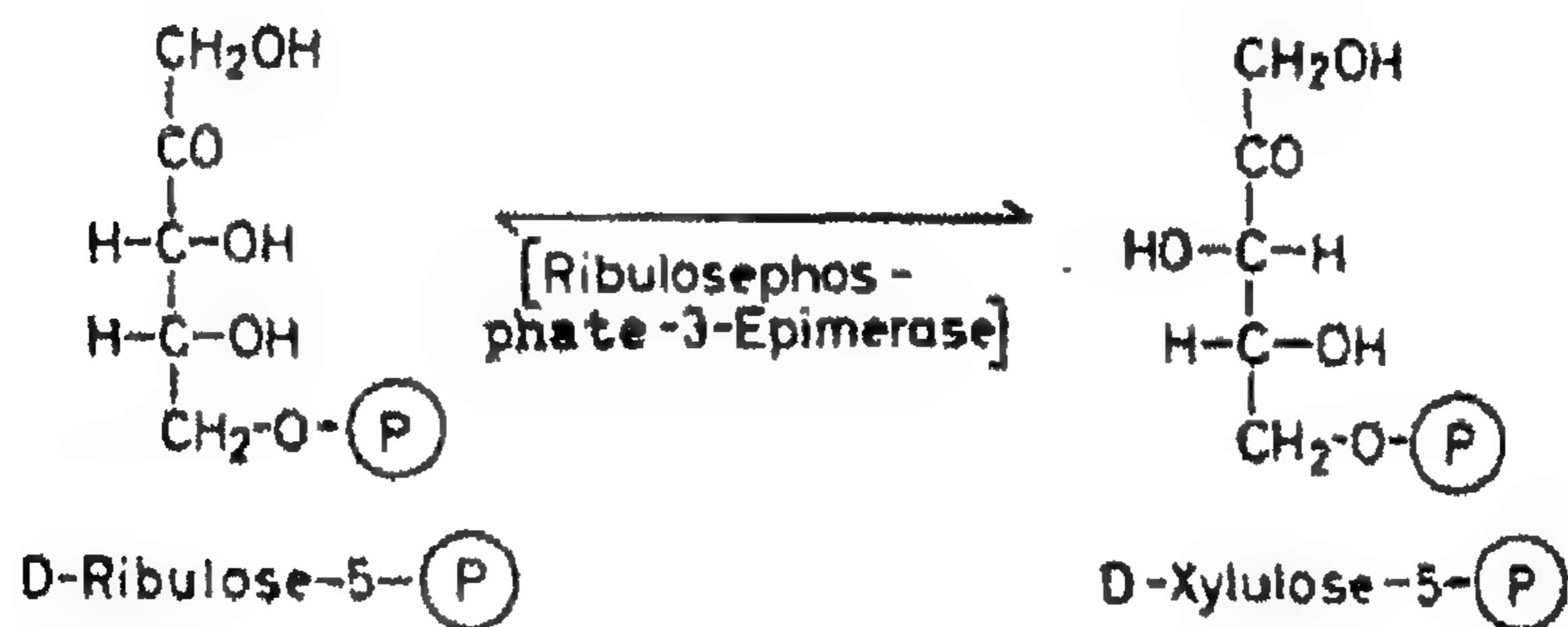
(41-3)

الخطوة السابعة: يتحول المركب رايبوز-5- فسفات إلى رايبلوز-5- فسفات بفعل الأنزيم Ribose phosphate isomerase شديد التخصص للركيزة:



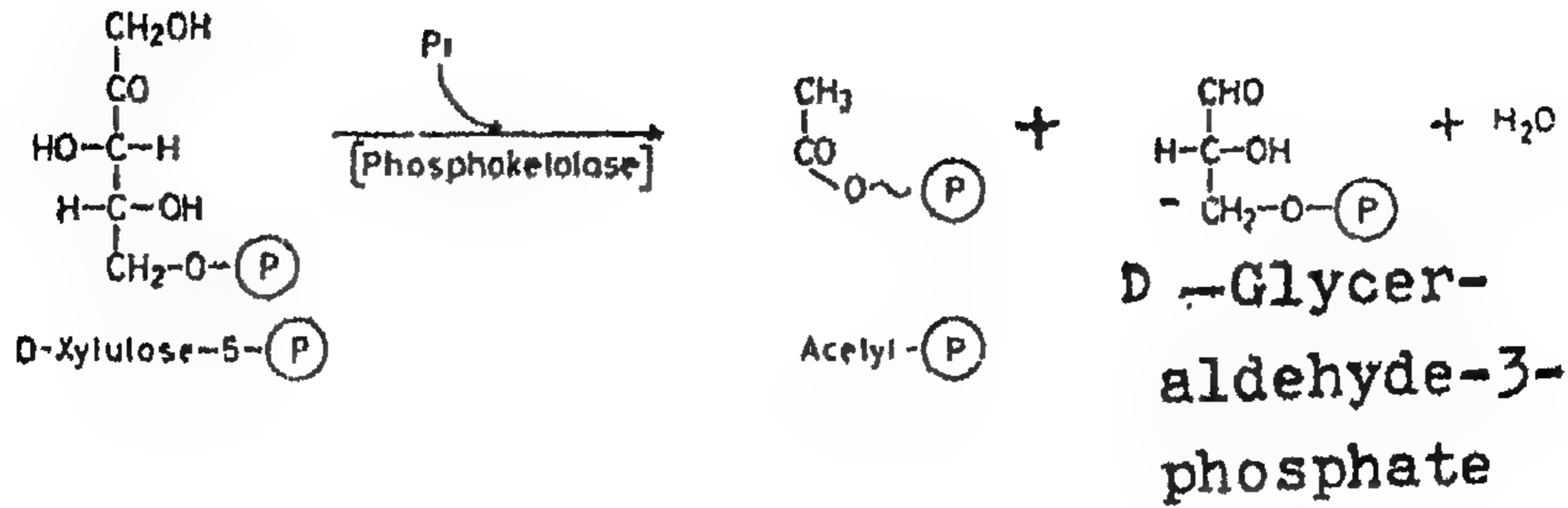
.... (42-3)

الخطوة الثامنة: يحفز الأنزيم Ribulose phosphate-3- epimerase -عالي التخصص- تحول رايبلوز-5- فسفات إلى زايليلوز-5- فسفات.



.... (43-3)

الخطوة التاسعة: يتحول زايليلوز-5- فسفات بفعل الأنزيم phosphoketolase إلى كلستر الدهيد-3- فسفات والمركب عالي الطاقة Acetylphosphate.



.... (3-44)

الخطوة العاشرة: يتحول Acetylphosphate بفعل أنزيم Acetate kinase إلى حامض الخليك مع تحرير جزيئة ATP (التفاعل 10 ، شكل 3-7).

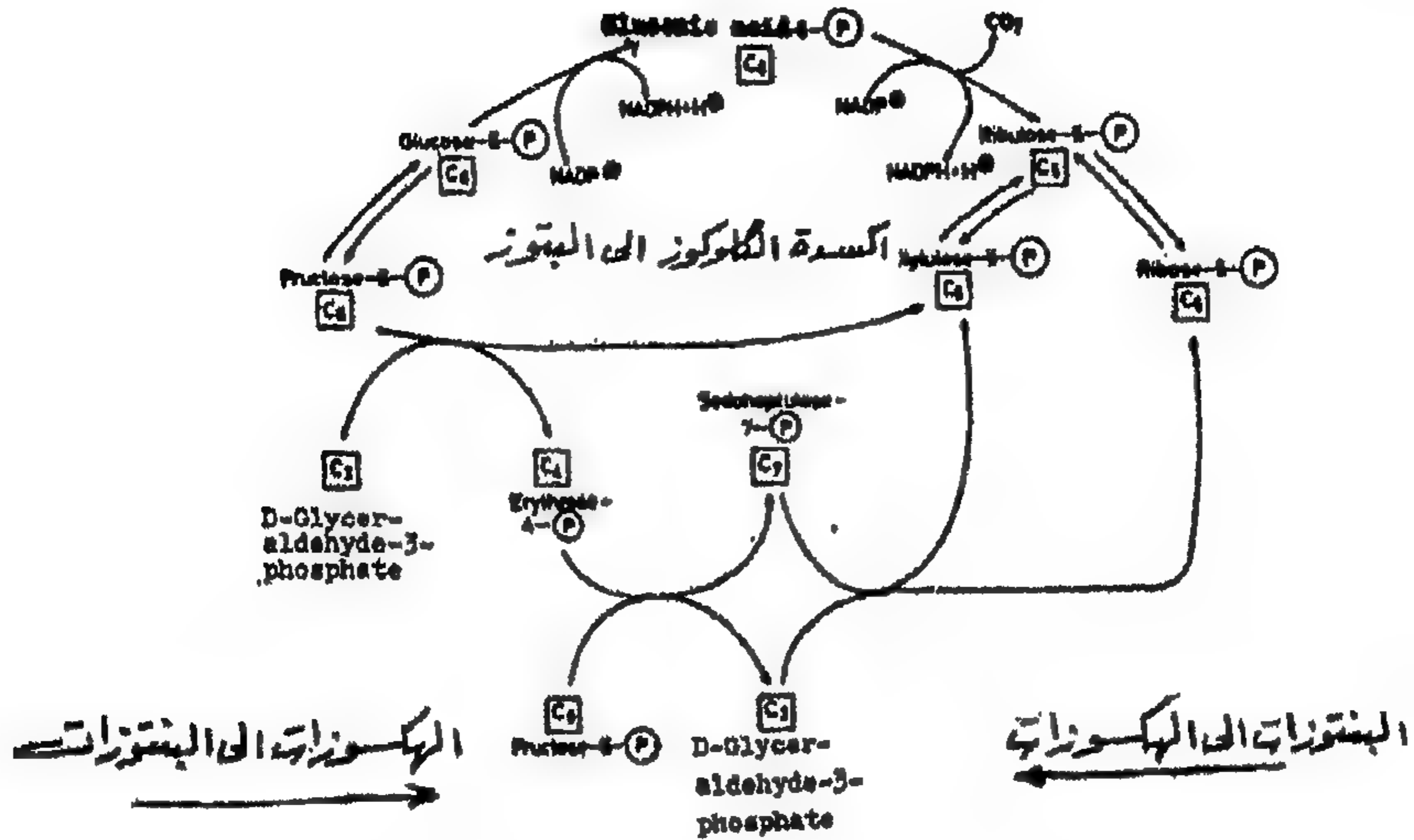
الخطوة الحادية عشرة: يتم الحصول على طاقة إضافية (بشكل ATP عند أكسدة كلسر الدهيد-3- فسفات إلى حامض اللاكتك بمسلك EMP إذ تنتج جزيئتان ATP لكل جزيئة كلسر الدهيد-3- فسفات يمكن تحويلها (التفاعل 11 ، شكل 3-7).

إن الطاقة الناتجة عن هذا النوع من الإختمار هي 2.5 جزيئة ATP لكل جزيئة سكر سداسي الكربون وبذلك يكون هذا النوع من الإختمار اكفاً في حفظ الطاقة من مسلك EMP (جزيئتان ATP لكل جزيئة سكر) أو مسلك KDPG (جزيئة ATP لكل جزيئة سكر سداسي الكربون) أو الإختمار اللاكتيكي متغاير التخمر الذي ينتج عنه CO_2 و 1-2 جزيئة ATP لكل جزيئة سكر سداسي الكربون.

وكما ذكرنا سابقاً فإن التفاعلات المحفزة بالانزيمين Transaldolase و Transketolase يعدان مقطعين من مسلك فسفات البنتوز (PPP) الذي يدعى أيضاً تقويض Warburg Dickens- Horecker. ينتج من مسلك فسفات البنتوز سكريات فسفات البنتوز اللازمة لتخليق الأحماض النووية ولتجهيز تفاعلات

التخليق بمكافئات الاختزال وإنتاج جزيئات مستلمة لثاني أوكسيد الكربون (رايبيلوز-5-فسفات) في التركيب الضوئي.

يوضح الشكل (3-8) مسلك فسفات البنتوز.



شكل (3-8) مسلك فسفات البنتوز PPP.

يتم في مسلك فسفات البنتوز تحويل الكلوكوز إلى كلوكوز-6-فسفات ثم تحويل الأخير إلى Phosphogluconic acid، وبالتالي تكوين رايبيلوز-5-فسفات وزايلوز-5-فسفات بأسلوب مشابه لما ذكر للاختصار اللاكتيكي متغاير التخمر الذي ينتج عنه CO_2 (شكل 3-6، والخطوات 1-5)، ثم يتم نقل وحدة ثنائية الكربون ($-CH_2OH-CO-$) من الفركتوز-6-فسفات إلى المركب كلسر الدهيد-3-فسفات وبذلك يتكون زايلوز-5-فسفات وارثروز-4-فسفات بفعل الأنزيم Transk-etolase:



(3-45)

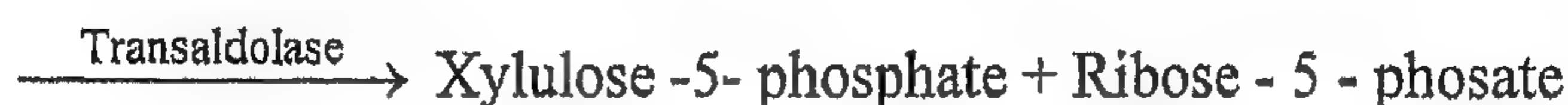
ثم تتوالي تحولات السكريات كآتي:



(46-3)



(47-3)



تماثل المعادلتان (46-3) و (47-3) المعادلتان (40-3) و (41-3) لتقويض الكلوكوز من خلال الفرقكتوز-6-فسفات في الإختمار اللاكتيكي متفاير التخمر في البكتريا *L.bifidus*.

ويتضح من الشكل 8-3 بأنه ينتج في مسلك PPP عن جزيئتي سكر سداسي الكربون وجزيئة سكر ثلاثي الكربون، ثلاث جزيئات سكريات خماسية الكربون.

لو أمعنا النظر في الشكل 8-3 لوجدنا بأنه إذا تمت المسلك من اليمين إلى اليسار يتبين التحول الرجوعي Reversible من السكريات خماسية الكربون إلى سداسيتها وعلى العكس فإن قراءة المسلك إلى اليمين يبين تحول السكريات سداسية الكربون إلى خماسيتها وبالحقيقة فإن إنتاج السكريات خماسية الكربون ومكافئات الإختزال يعد أهم نتاج لهذا المسلك.

3-1-1-3 الاختمارات المنتجة للإيزوبروبانول، بيوتانول، حامض البيوتريك أو الاستون:

التخميرات المنتجة لحامض البيوتريك أو الإيزوبروبانول أو البيوتانول أو الاستون تحصل عادة في البكتريا اللاهوائية المكونة للسبورات التي تنتمي إلى جنس الكلوستريديوم *Clostridium* ومنها:

Clostridium butyricum: ولها القدرة على تخمير المركبات الكريوهيدراتية وتكوين حامض البيوتريك.

Clostridium acetobutylicum: تؤدي إلى تخمير السكريات إلى حامض البيوتريك ومن تحويله إلى بيوتانول كما تستطيع تكوين الاستون

Clostridium butylicum: ولها القدرة على تكوين الايزوبروبانول Isopropanol يوضح الجدول 2-3 نواتج التخمر في الظروف اللاهوائية التامة للأنواع الثلاثة من الكلوستريديوم التي تعد مهمة صناعياً.

جدول 2-3 نواتج الإختمار لثلاثة أنواع مهمة صناعياً من الكلوستريديوم مصدر رقم (1)

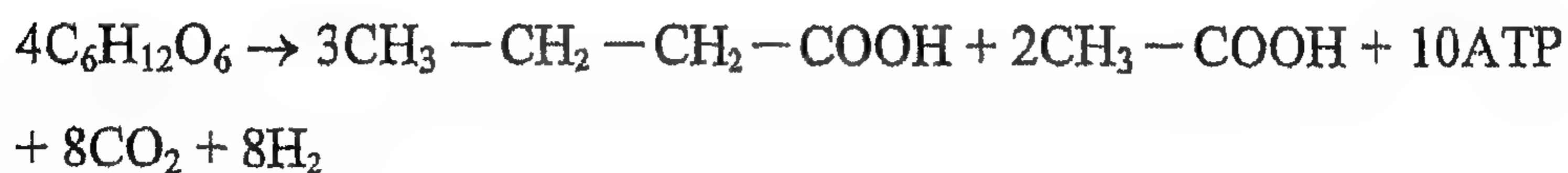
نواتج الإختمار	Cl. butyricum Type: Butyric acid	Cl. acetobutylicum Type: Acetone butanol	Cl. Butyricum Type. Butanol Isopropanol
	ملي مول لكل 100 ملي مول كلوكوز مختمر	ملي مول لكل 100 ملي مول كلوكوز مختمر	ملي مول لكل 100 ملي مول كلوكوز مختمر
حامض البيوتريك	76	4	17
حامض الخليك	42	14	17
ايثانول	-	7	-
بيوتانول	-	56	59
اسيتون	-	22	-
ايزوبروبانول	-	-	12
استيوتين Acetoin	-	6	-
CO ₂	188	221	204
هيدروجين	235	135	78

نواتج الإختمار	Cl. butyricum Type: Butyric acid	Cl. acetobutlicum Type: Acetone butanol	Cl. Butyricum Type. Butanol Isopropanol
الكربون الكلي %	96	100	96

للاختمار المنتج لحامض البيوتريك دور مهم في تكنولوجيا الأغذية إذ يعد هذا الاختمار في معامل الأغذية غير مرغوب فيه. إن البكتريا المسؤولة عن هذا الإختمار تكون سبورات مقاومة نسبيا لحرارة التعقيم كما تحوي أنزيمات اميلاز فعالة جدا تحلل المواد الغذائية الحاوية على النشا، إن تلوث المنتجات الغذائية أو المواد الأولية بهذه الأنواع من البكتريا يؤدي إلى ظهور رائحة حامض البيوتريك كما يحصل لمنتجات الحليب الملوثة بها.

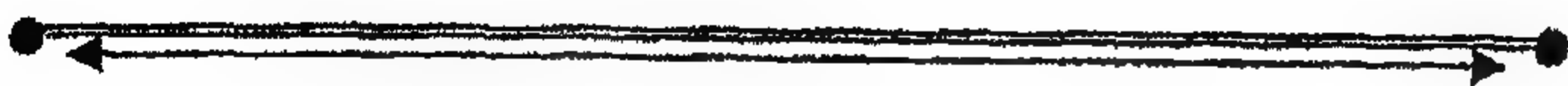
على عكس الحالة مع الإختمار المنتج لحامض البيوتريك، فإن التخمر المنتج للبيوتانول والاستون مرغوب ومستغل صناعيا في بعض الدول وبصورة خاصة إنتاج البيوتانول بوصفه مذيبا عضويا ذا أهمية كبيرة من الناحية الإقتصادية إذ أن إنتاجه من الأحياء المجهرية أرخص بكثير من إنتاجه بطرق أخرى.

يمكن كتابة المعادلة الإجمالية للاختمار المنتج لحامض البيوتريك كما يأتي:

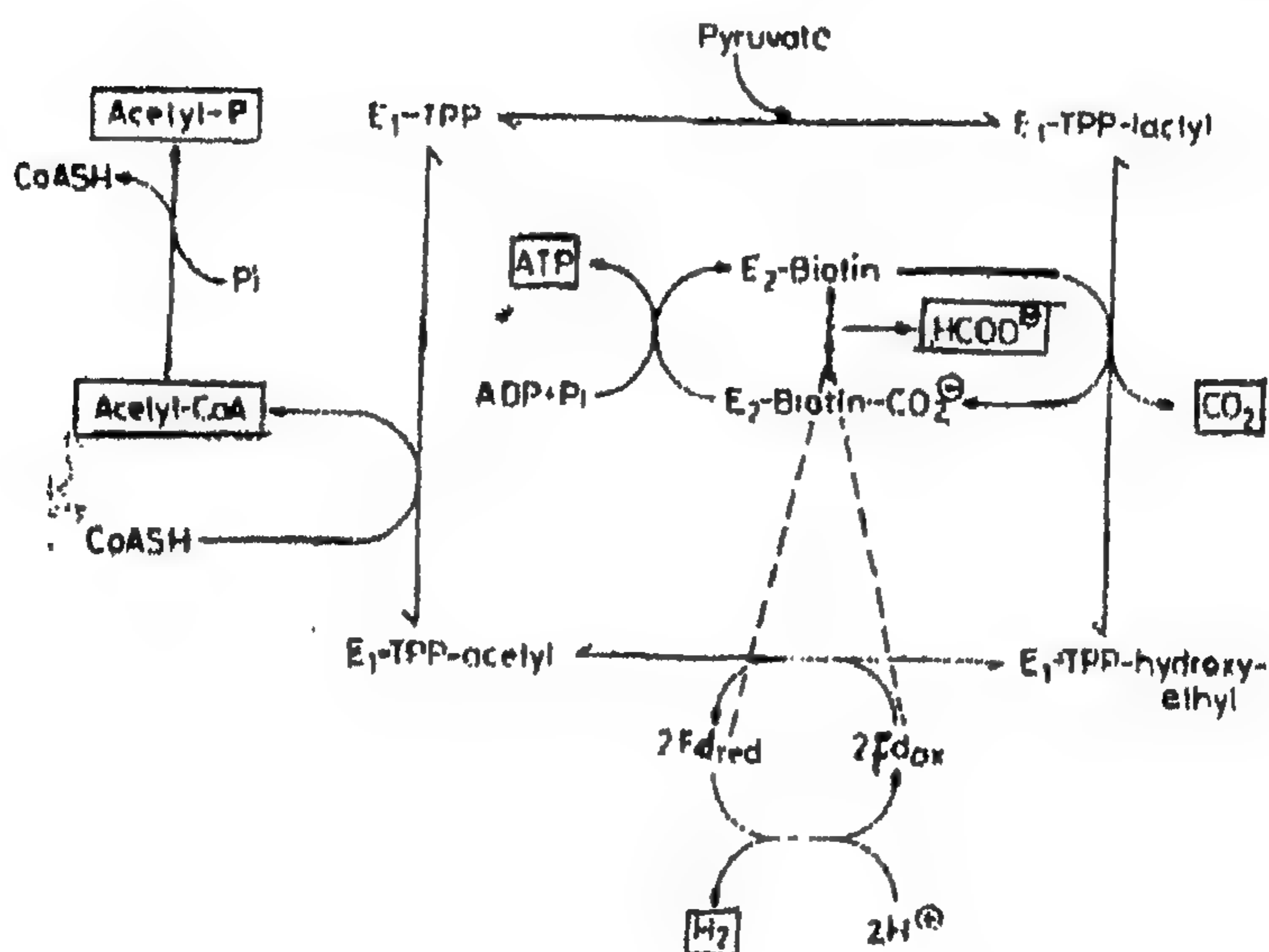


....(47-3)

ويوضح الشكل 3-9 مخطط لتفاعلات التخمرات المنتجة لحامض البيوتريك والاستون الايزوبروبانول والبيوتانول.

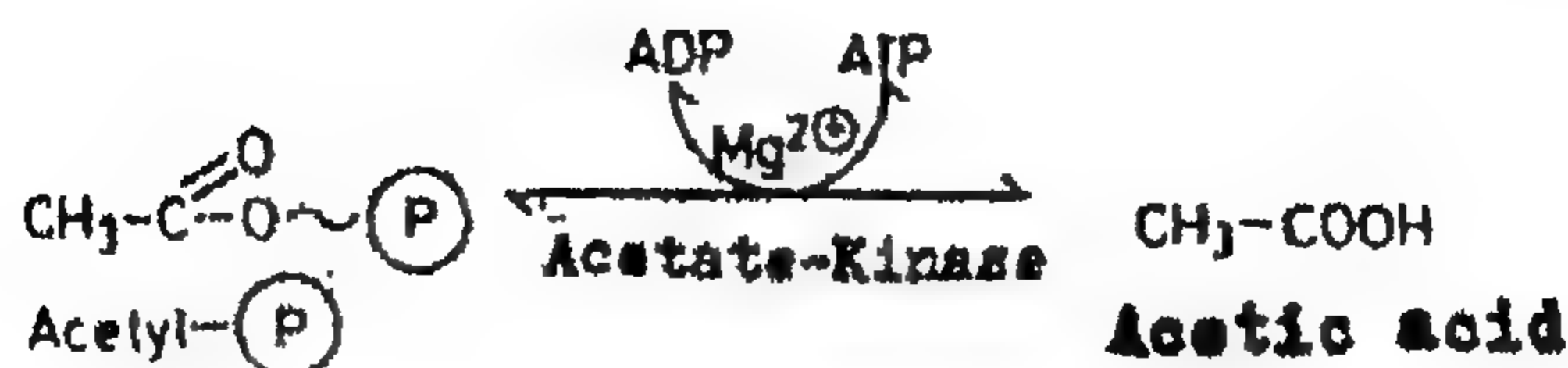


بواسطة المركب Ferredoxin (بروتين حاو على الحديد ويبلغ وزنه الجزيئي 5500 وذ جهد اختزال قيمته -0.425 فولت) إلى $E_1\text{-TPP-acetyl}$ وبذلك فإن Ferredoxin يتحول من الشكل المؤكسد (ox) إلى الشكل المختزل (Fd (red) ويقوم الأخير بدوره بتحويل البروتونات المتحررة نتيجة لأكسدة $E_1\text{-TPP-hydroxyethyl}$ إلى $E_1\text{-TPP-acetyl}$ إلى جزيئات هيدروجين. يقوم تميم الأنزيم Coenzyme AA بمثابة مستقبل لمجموعة الاستيل وبذلك يتكون المركب Acetyl/CoA مع تحرير $E_1\text{-TPP}$ (شكل 3-10).



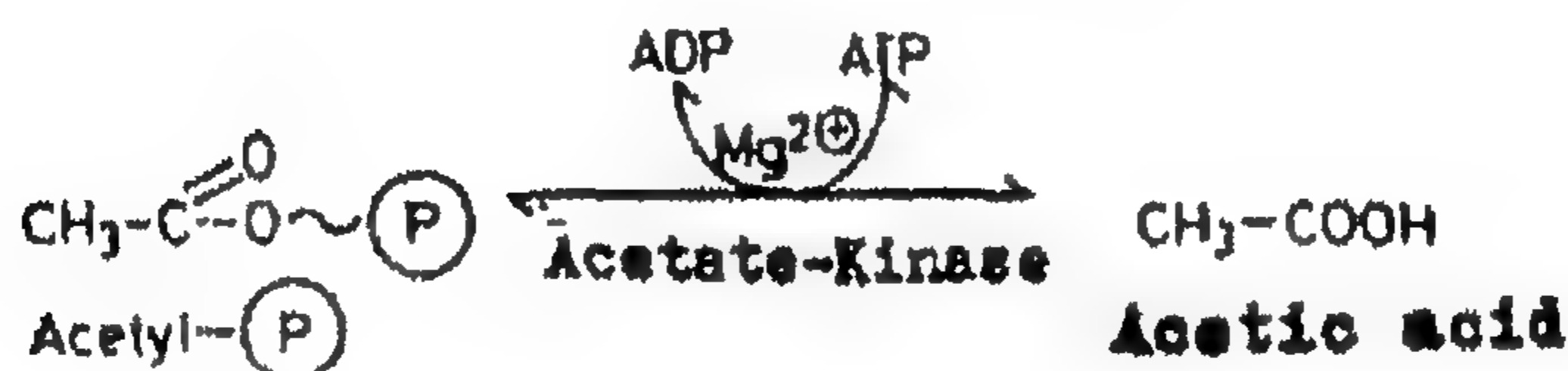
شكل (3-10) نتائج الإنشطار المحفز لحامض البيروفاك في بعض أنوات الكلوستريديوم Clostridium.

الخطوة الثالثة: يقوم الأنزيم phosphate acetyltransferase بتحويل المركب Acetyl CoA إلى Acetyl phosphate ويسمى التفاعل: التحفيز الفسفوري.



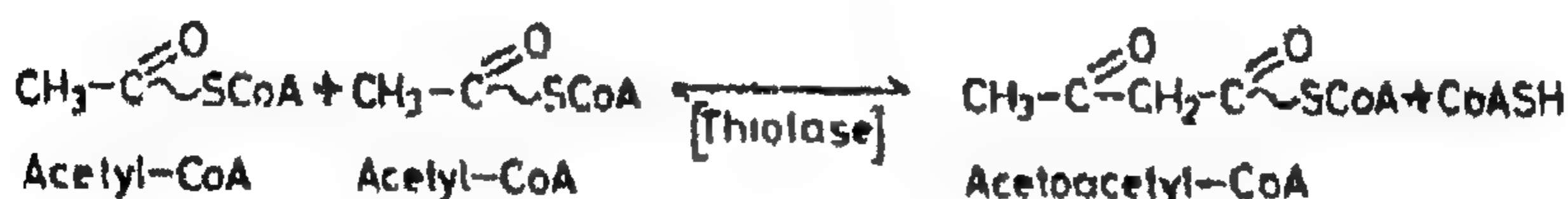
(48-3) ...

الخطوة الرابعة: ويتم فيها إنتاج طاقة بشكل ATP إضافة إلى تكوين حامض الخليك وذلك بفعل الأنزيم Acetate kinase:



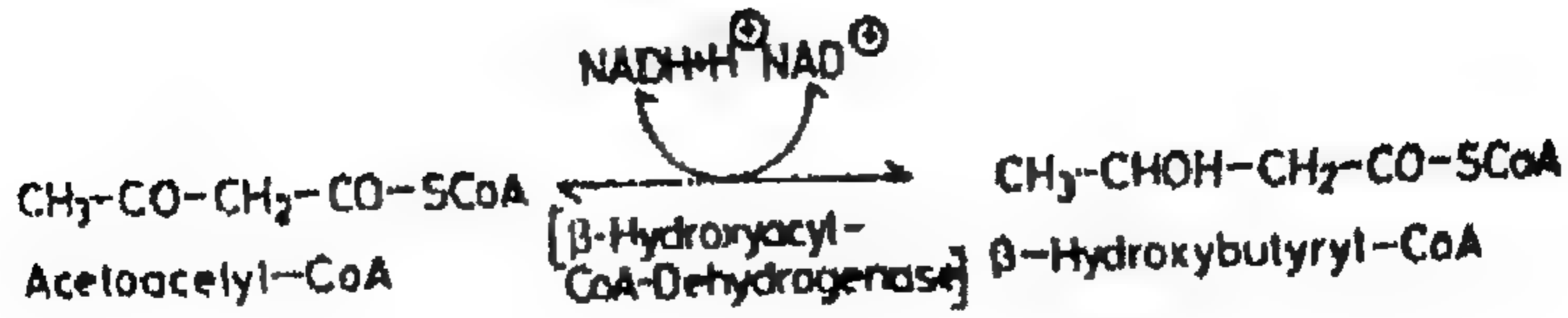
(49-3) ...

الخطوة الخامسة: تتكاثف معظم جزيئات حامض الخليك النشط CoA Acetylly إلى حامض الاستواسك Acetoacetic acid بوجود الأنزيم Thiolase Acetyl CoA Acetyl trans ferase المتخصص للركيزة Acetoacetyl CoA:



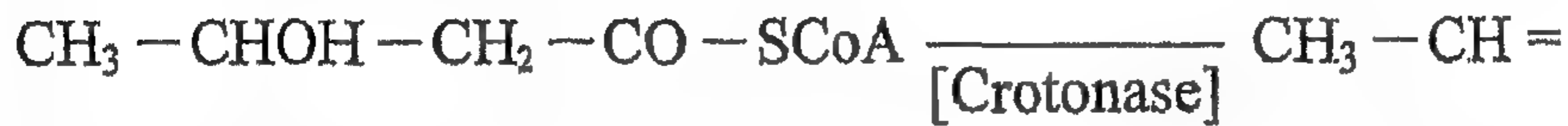
(50-3) ...

الخطوة السادسة: يتحول Acetoacetyl CoA إلى B-Hydroxybutryl بواسطة الأنزيم B-Hydroxyacyl CoA dehydrogenase علما بأن هذا الأنزيم يعمل على جميع المركبات Acyl-CoA المتكونة من 4 إلى 14 ذرة كربون وبالسريعة نفسها.



(51-3) ...

الخطوة السابعة: تزال جزيئة ماء من المركب B-Hydroxy butyryl بواسطة الأنزيم Hydro-lyase L-3- Hydroxyacyl CoA Enoy CoA hydratase ويدعى كذلك Crotonase:



β = Hydroxybutyryl - CoA

Crotonyl - CoA

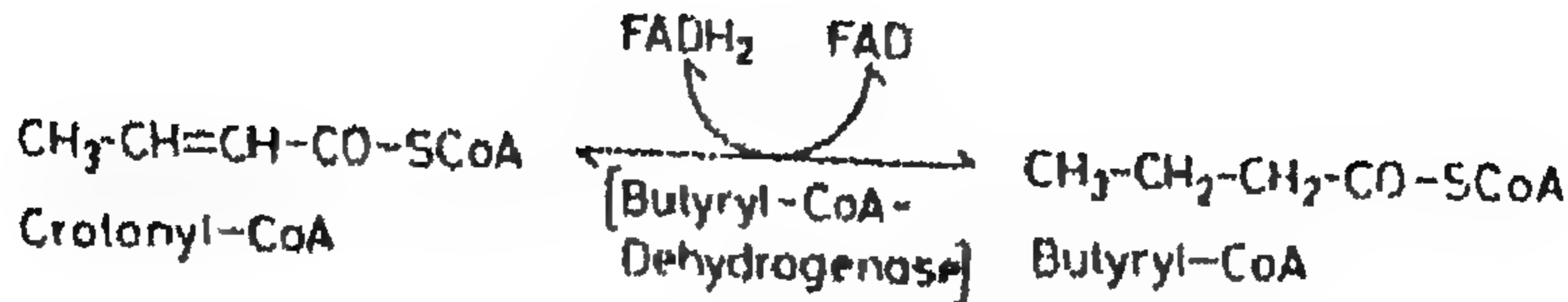


(52-3)...

إضافة إلى فعله التحفيزي بإزالة مكونات الماء من الركيزة، يعمل الأنزيم Crotonase كذلك في تحويل مركب إلى زميره Isomerase أو التحويل الرجوعي بين الشاكلين D و L للركيزة Racemase أبو بوصفه أنزيمًا فاصلاً Thioltrans- Crotonylase وهذا يعني بأن الأنزيم ذو تخصص واطيء.

الخطوة الثامنة: يختزل المركب Crotonyl CoA إلى Butyryl CoA

بواسطة الأنزيم Butyryl CoA dehydrogenase Butyryl CoA: acceptor- oxidoreductase والآنزيم FAD للتفاعل.

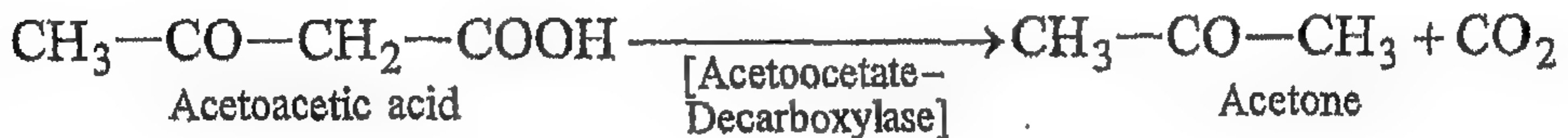


... (53-3)

الخطوة التاسعة: يتحول Butyryl CoA إلى حامض البيوتريك وذلك بإنفصال COASH أو بربطه مع الخلايا لتكوين Acetyl CoA (شكل 3-9، التفاعل 9).

الخطوة العاشرة: تحول Acetoacetyl CoA إلى الحامض Acetoacetic بأسلوب مماثل للخطوة التاسعة.

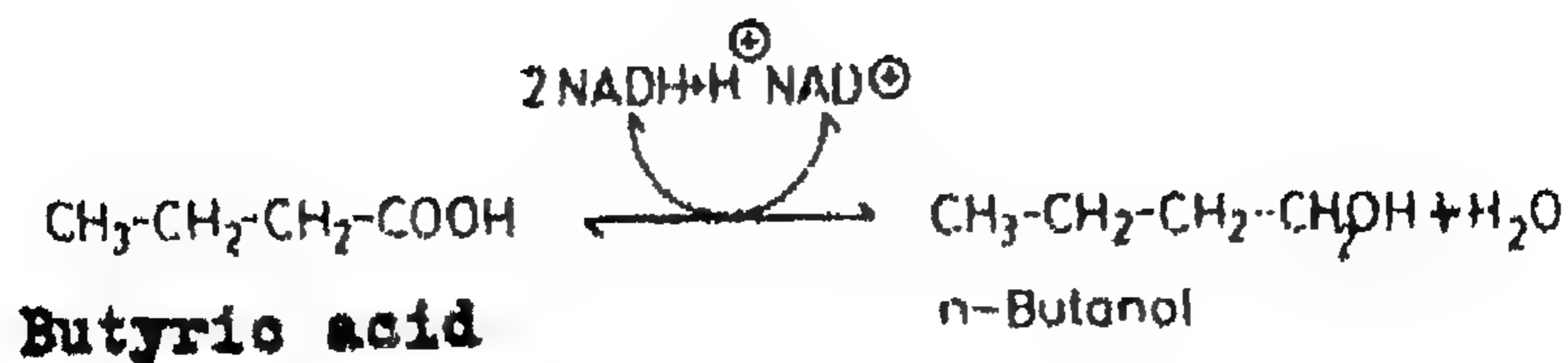
الخطوة الحادية عشرة: عند تراكم Acetoacetic acid في البكتريا Cl. Butylicum و Cl. Acetobutylicum تكوين الأنزيم Acetoacetate decarboxylase (carboxylyase) الذي يحول الركيزة Acetoacetic acid إلى استون و CO₂.



... (54-3)

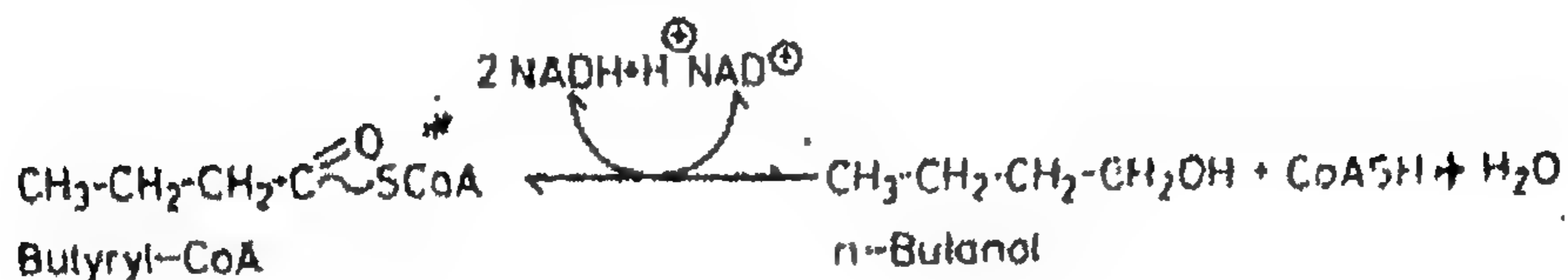
وعند حصول هذا التفاعل يحصل نقصان شديد في المركب Crotonyl CoA (لاحظ الشكل 3-9) وبذلك فإن مكافئات الإختزال التي تستغل عادة لإختزال ال Crotonyl CoA ، نتيجة لإختزال حامض البيوتريك و Butyryl CoA كما موضح أدناه.

الخطوة الثانية عشرة: اختزال حامض البيوتريك إلى البيوتانول:



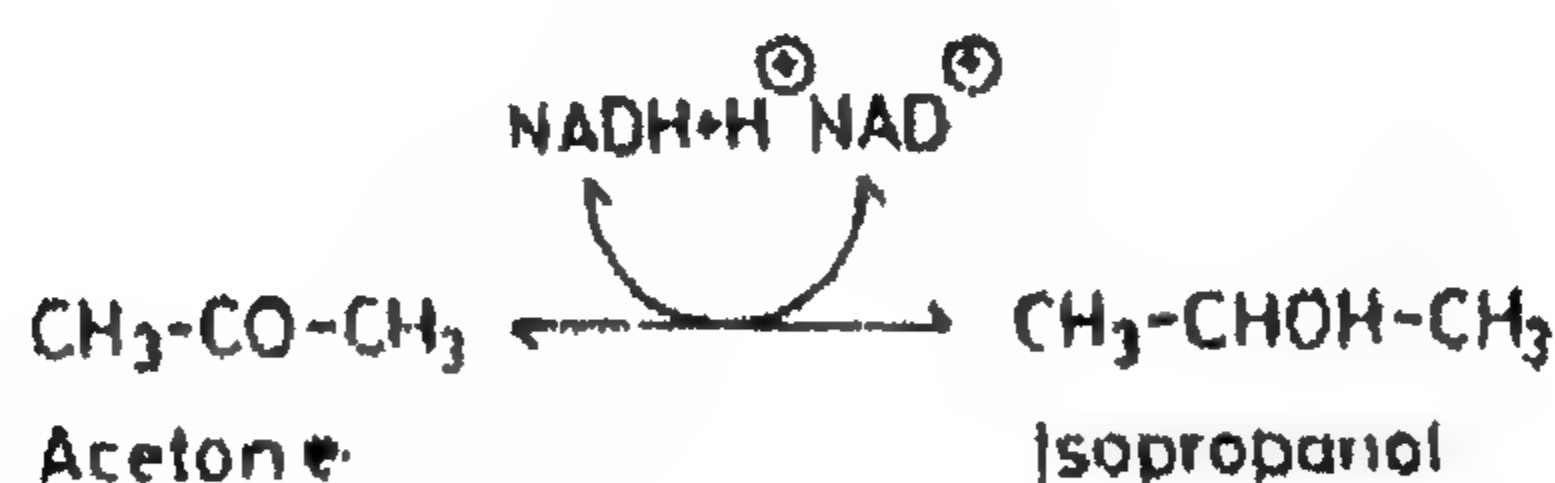
(55-3) ...

الخطوة الثالثة عشرة: اختزال Butyryl CoA إلى البيوتانول:



(56-3) ...

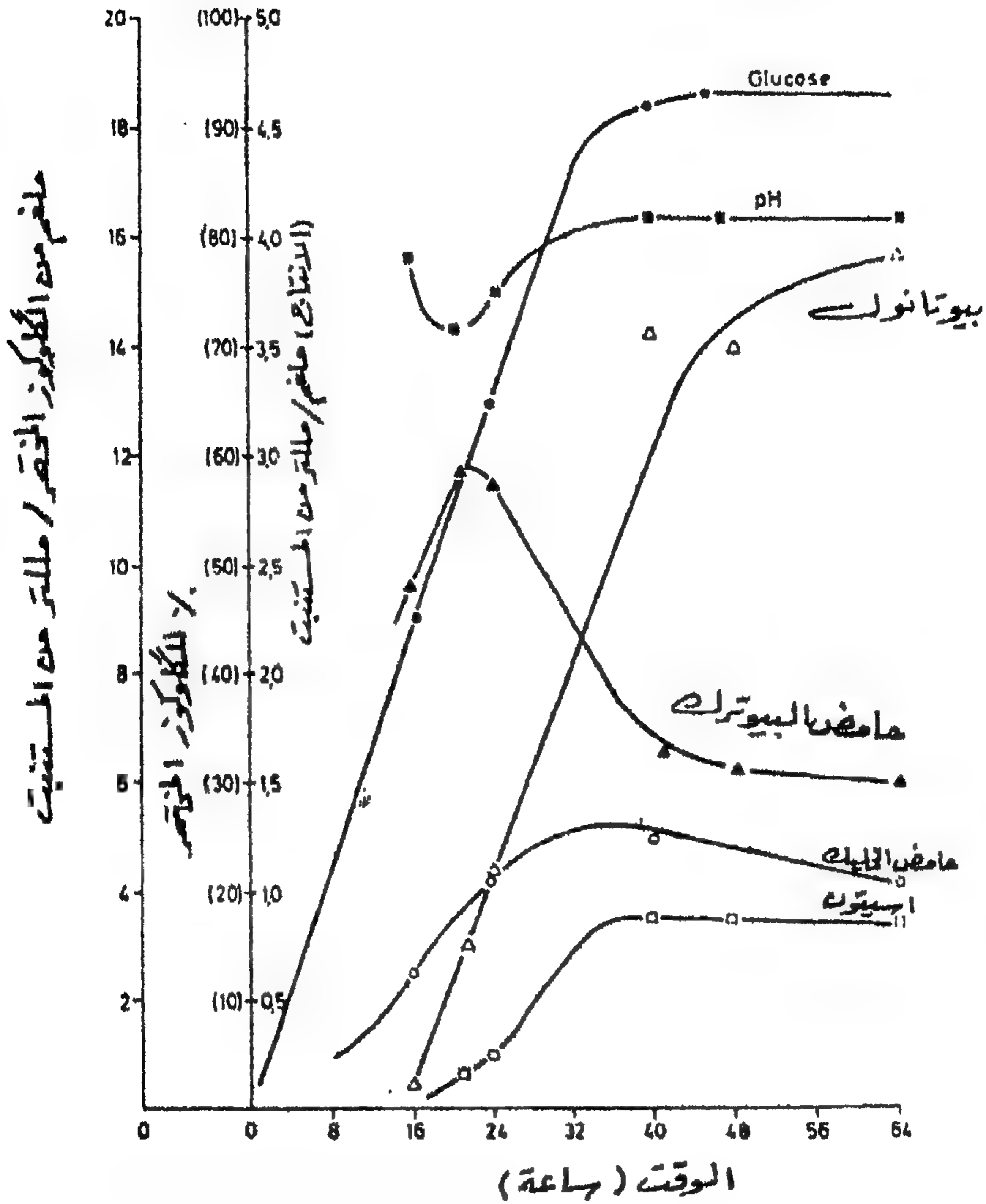
الخطوة الرابعة عشرة: في البكتريا Cl. Butylicum يختزل الاستون إلى ايزوبروبانول.



(57-3) ...

ويمكن توضيح التضاد Antagonism بين إنتاج البيوتريك من جهة والبيوتانول والاستون من جهة أخرى بمرور الزمن عند تخمر الكلوكوز بواسطة البكتريا Cl. Acetobutylicum كما في الشكل (3-11). يتضح من الشكل

ازدياد انتاج البيوتانول والاستون مع الزمن وانخفاض انتاج حامض البيوتريك نتيجة
لحث تخليق الأنزيم Acetoacetate decarboxylase



شكل (3-11) حركات الاختمار المنتج للبيوتانول والاستون (مصدر رقم 1).

3-1-1-4 الاختمار الحامضي المختلط أو الاختمار الاستوئيني Acetion fermentation

تخمّر بعض أنواع البكتريا الكلوكونز بآلية معقدة وتنتج مزيجاً من الحوامض كالاكتيك والخليك والفورميك والسكنسك إضافة إلى مواد عضوية أخرى ويوضح الجدول 3-3 التوازن الاختماري لبعض أنواع البكتريا.

جدول 3-3 التوازن الاختماري لبعض أنواع البكتريا

النتائج المقدرة بالملي مول لكل 100 ملي مول كلوكونز مختمر	Escherichia Coli (PH 6.2)	Escherichia Coli (PH 7.8)	Klebsiella aerogenes	Bacillus subtilis	Serration Marcescens
حامض اللاكتيك	79.5	70.0	10.1	17.6	10.1
حامض الخليك	36.5	38.7	51.9	0.2	3.8
حامض الفورميك	2.4	86.0	68.4	1.3	48.2
حامض السكنسك	10.7	14.8	13.1	1.1	8.2
ايتانول	49.8	50.5	51.5	7.7	46.0
كلسيرون	1.4	0.3	4.2	56.8	1.3
استيوتين	0.1	0.2	—	1.5	1.9
3.2 بيوتان داي اول	0.3	0.3	19.2	54.6	64.0
ثاني اوكسيد الكربون	88.0	1.8	79.6	117.8	116.8
الهيدروجين	75.0	0.3	—	0.1	0.0
النسبة المئوية للكربون الذي وجد في النواتج	91.2	94.7	95.3	98.0	102.5

مصدر رقم (8)

من النواتج المميزة لهذا الاختمار في البكتريا E.coli حامض الفورميك ويعتمد تكوين هذا الحامض بدرجة كبيرة على الرقم الهيدروجيني للمحيط فإذا كان قاعدياً تكون حامض الفورميك بكميات كبيرة أما في المحيط الحامضي فيظهر عوضاً عن حامض الفورميك، نواتج تحلله وهي CO_2 وهيدروجين.

يمكن كتابة المعادلة الإجمالية والمثالية لإختمار الكلوكوز في المحيطين الحامضي والقاعدي كالآتي:

أ. عندما يساوي الرقم الهيدروجيني 7.8.

pH 7.8:



(58-3)....



ب. عندما يساوي الرقم الهيدروجيني 6.2

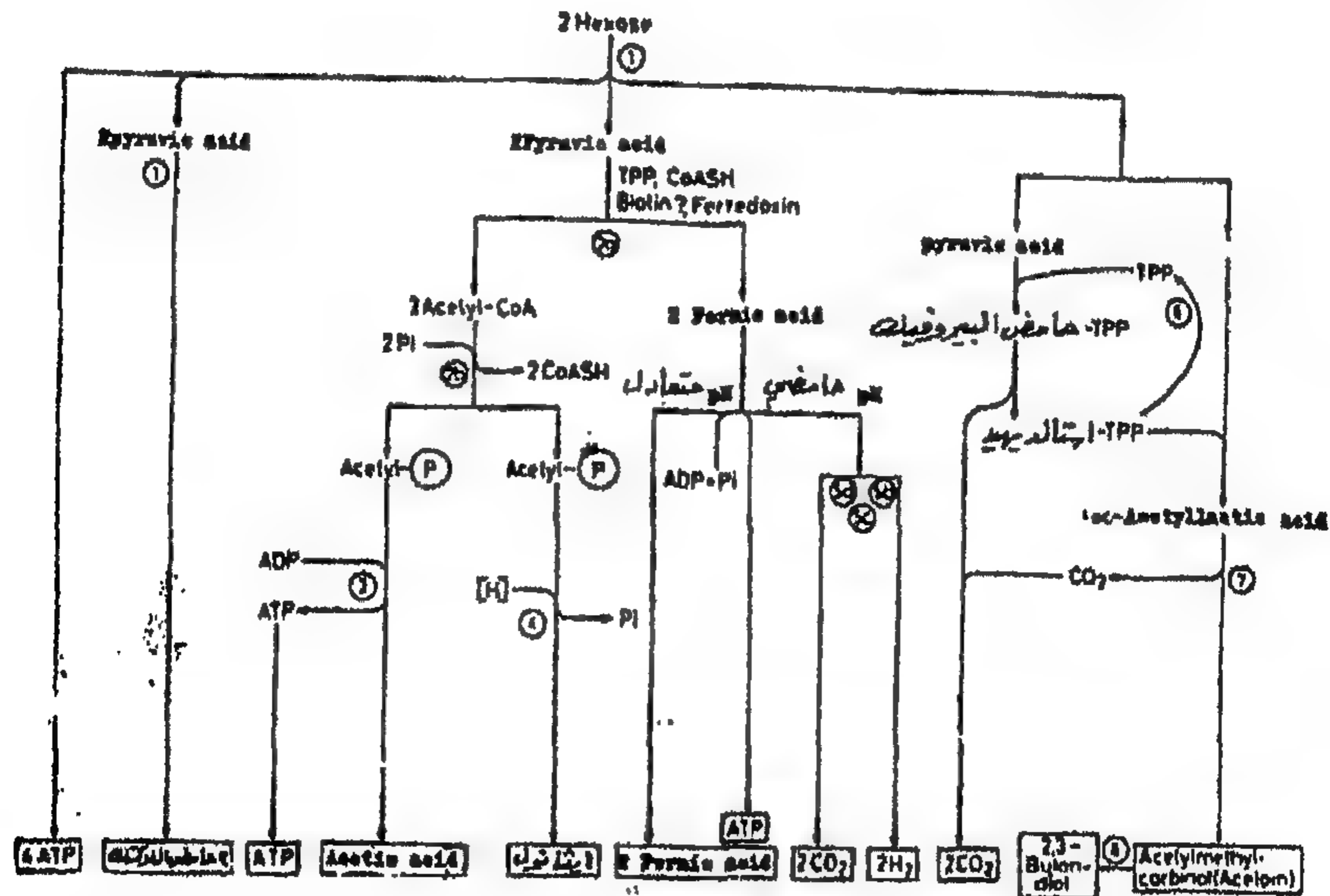
PH 6.2:



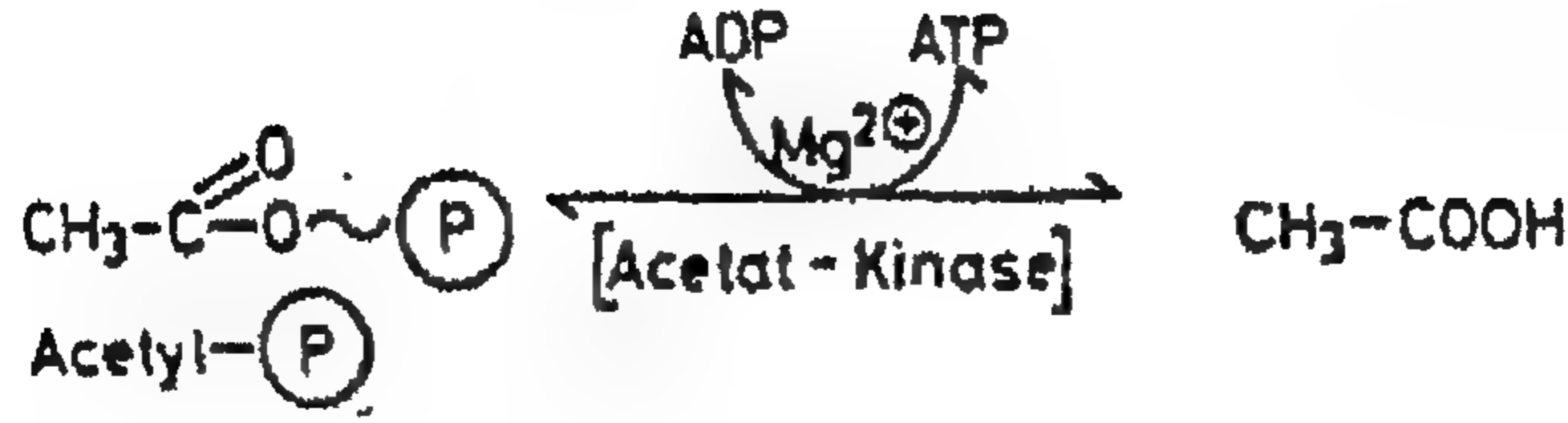
(59-3).....



يوضح الشكل 12-3 مخطط للاختمار الحامضي المختلط (الاختمار الاستوئي)



شكل (12-3)



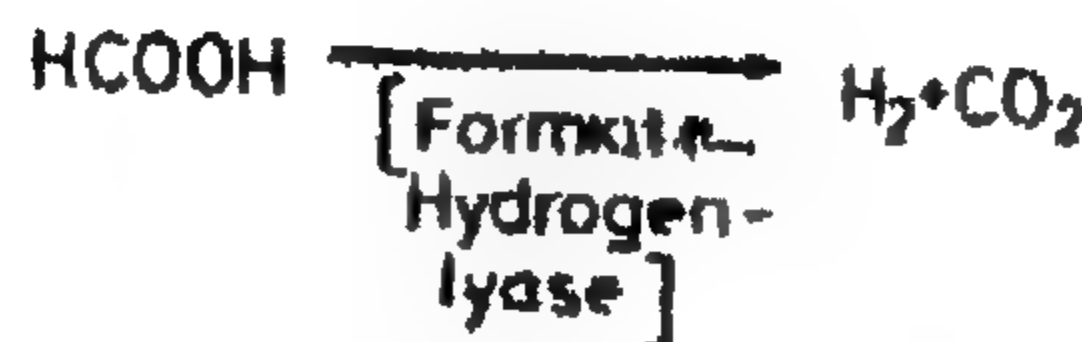
(61-3) ...

وبذلك يتكون حامض الخليك ويكون حصيلة هذا المسلك (كلوكوز إلى حامض الخليك) ثلاثة مول ATP لكل مول من الكلوكوز المختمر. يعتمد إنتاج الإيثانول في البكتريا Coliform على اختزال المركب Acetylphosphate (تفاعل رقم 4 شكل 3-12):



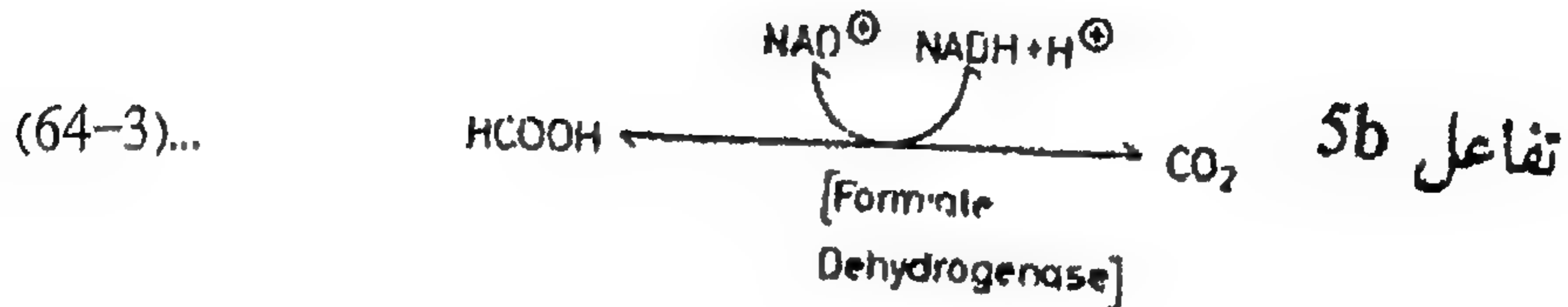
(62-3) ...

إن المعلومات المتوفرة عن الأنزيمات المسؤولة عن هذا التفاعل قليلة وكذلك الحال مع التفاعلات (5a ← شكل 3-12) ومن المعروف تحول حامض الفورمك إلى H_2 و CO_2 في محيط حامضي ويعتقد بأن الأنزيم Formate hydrogen lyase محفز لهذا التفاعل (تفاعل 5a، شكل 3-12):



(63-3) ...

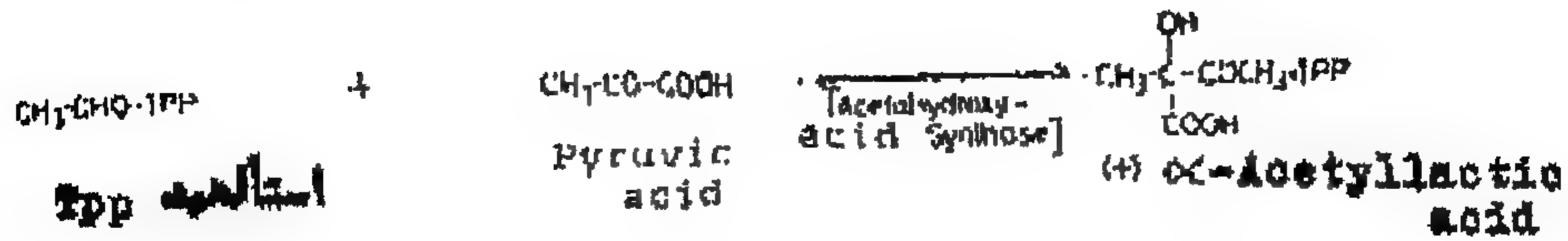
وفي الوقت ذاته يعتقد بوجود تآزر Synergism بين الأنزيمين Formate Dehydrogenase (المحفز للتفاعل 5b) و Hydrogenase (المحفز للتفاعل 5c):



ذكرنا فيما تقدم تكوين حامض الخليك وحامض الفورمك ($\text{H}_2 + \text{CO}_2$) بطريقة الإنشطار المحفز ويتم هذا في البكتريا E.coli كما يرجع إنتاج حامض اللاكتيك فيها جزئياً بطريقة EMP.

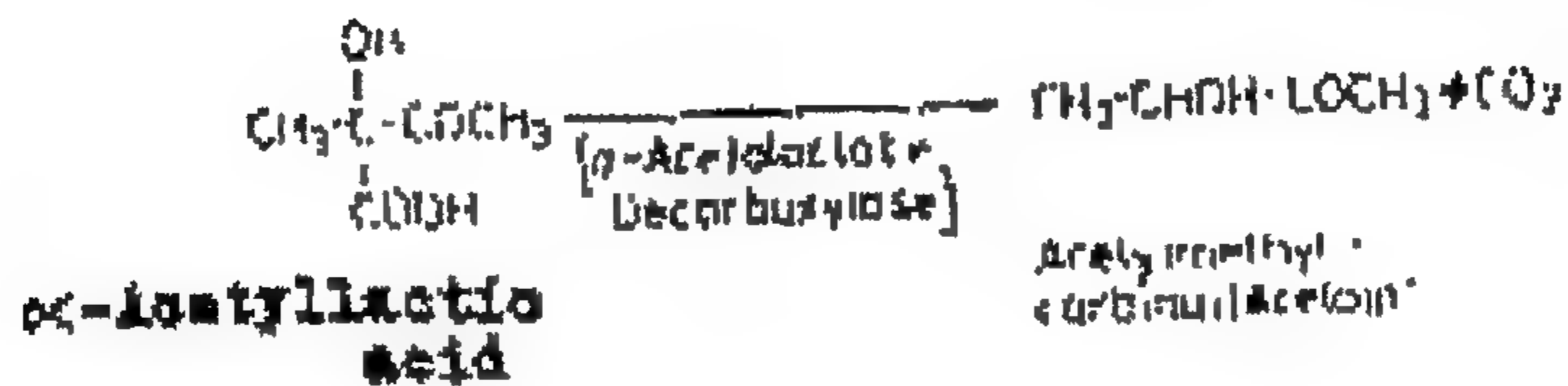
وهناك احياء مجهرية قادرة على تحويل حامض البيروفيك إلى الاستوئين Acetoin والمركبات المشتقة منه مثل 2 butandiol 3. إن التفاعل الأساس لتخليق الاستوئين Acetoin في البكتريا، ناتج عن تكاثف جزيئين من حامض البيروفيك إلى α -Acetyl lactic acid بمشاركة التميم الأنزيمي TPP (شكل 3-12 التفاعل 6) حيث يرتبط جزيئة بيروفات مع المركب TPP لتكوين TPP-pyruvate لا يلبث أن يتحول إلى Acetaldehyde-TPP بوجود الأنزيم Pyruvate decarboxylase (انظر المعادلة 3-15 والخطوة الحادية عشرة في الإختصار الكحولي فقرة 3-1-1-1).

يتفاعل حامض البيروفيك مع TPP (تفاعل 6 شكل 3-12) كما يأتي:



(66-3) ...

وبعد إزالة مجموعة الكربوكسيل، يتحول α-Acetyl lactic acid إلى Acetion (تفاعل 7، شكل 12-3) :-

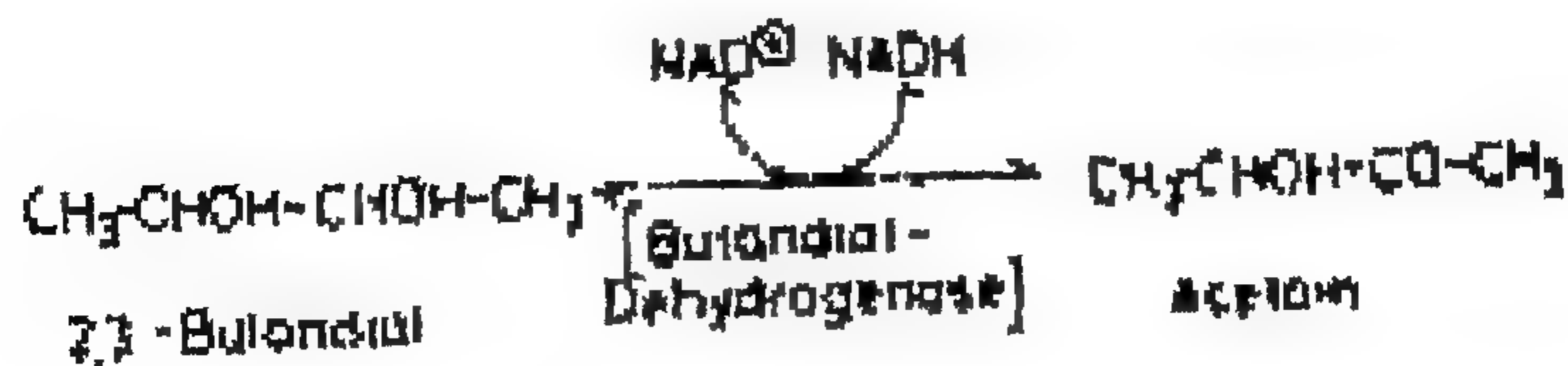


(67-3) ...

إن إزالة الكربوكسيل تتم بخصوصية فراغية Stereoepecifically يختلف تكوين الاستوئين في الخميرة عنه في البكتريا وذلك لأن العملية تتم بتكاثف جزيئة واحدة من الاستالدهيد الفعال $\text{CH}_3\text{CHO} \cdot \text{TPP}$ مع جزيئة استالدهيد وتتم العملية بالفعل التحفيزي لأنزيم واحد (عكس الحالة مع البكتريا) وهو الأنزيم pyruvate decarboxylase.

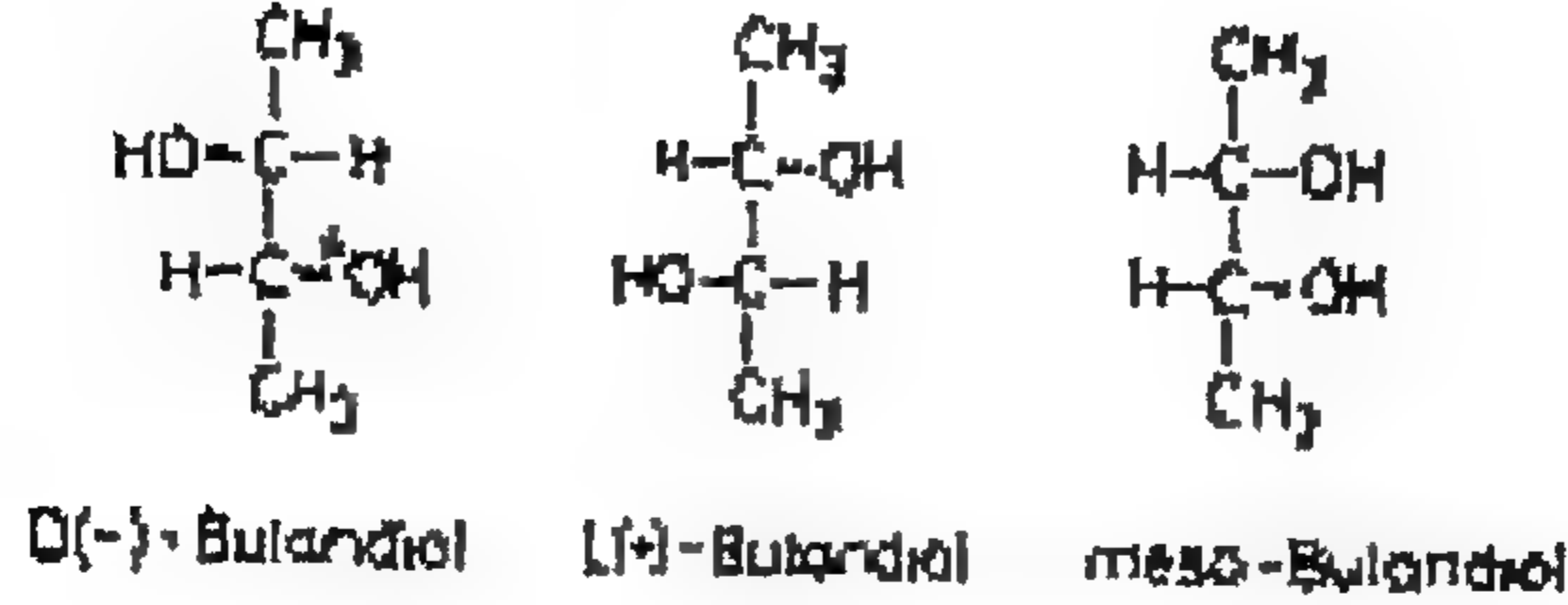
ويمكن اختزال الاستوئين (تفاعل 8- شكل 12-3) إلى 2.3 Butandiol

بواسطة أنزيم شديد التخصص وهو NAD- oxidoreductase (2.3 Butandiol) NAD- Butandiol-dehydrogends.



(68-3) ...

يوجد ثلاث متناظرات فراغية للبيوتان ثنائي الهيدروكسيل Butandiol ويمكن الحصول عليها جميعاً من أحياء مجهرية متخصصة.



ويلعب اختمار البيوتان ثنائي الهيدروكسيل diol دوراً في التكنولوجيا حيث يعد مادة أولية مهمة لتصنيع المطاط.

يمكن تمييز ثلاثة أنواع من الاختمار المركب Butandiol استناداً إلى المركبات الثانوية الناتجة:

أ- مجموعة Diol-formic acid (Serratia marcescens) وتنتج حامض الفورمك إضافة إلى Butandiol

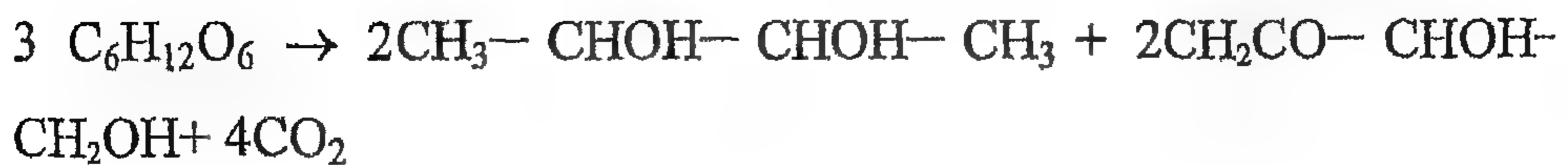
ب- مجموعة Diol- H₂ (Klebsiella aerogenes)

وتنتج H₂ إضافة إلى Butandiol



ج- Bacillus subtilis Diol-Glycerol

وتنتج Glycerol إضافة إلى Butandiol



يمكن أن يستغل الإختمار الأخير لإنتاج الكسيرول، ذلك لأن الكليسيرول يشكل أكثر من 50% من السكر المختمر وهذه النسبة أعلى منها للإختمار الناتج عن إضافة الكبريتيت إلى الخميرة وحيث تكون 30%.

3-1-1-5 الإختمار المنتج لحامض البروبيونك

ليس لهذا النوع من الإختمار أهمية صناعية وذلك لأن إنتاج حامض البروبيونك بطريقة كيميائية صرفة، أكثر نفعاً، إلا أن أهمية هذا الحامض تظهر في صناعة الألبان عند تصنيع بعض أنواع الأجبان الجافة مثل إيمنتال Emmental ويصاحب العملية تحرر غاز CO_2 مؤدياً إلى تكوين فجوات في هذا النوع من الأجبان إضافة إلى النكهة الناتجة عن حامض البروبيونك.

يسبب هذا النوع من الإختمار، جنس بكتريا حامض البروبيونك وكمثال freudenreichii و P.shermanii و P.pentosaceum إضافة إلى أجناس أخرى وكمثال جنس Clostridium نوع Clostridium propionicum.

يمكن كتابة المعادلة الإجمالية المثالية كالآتي:

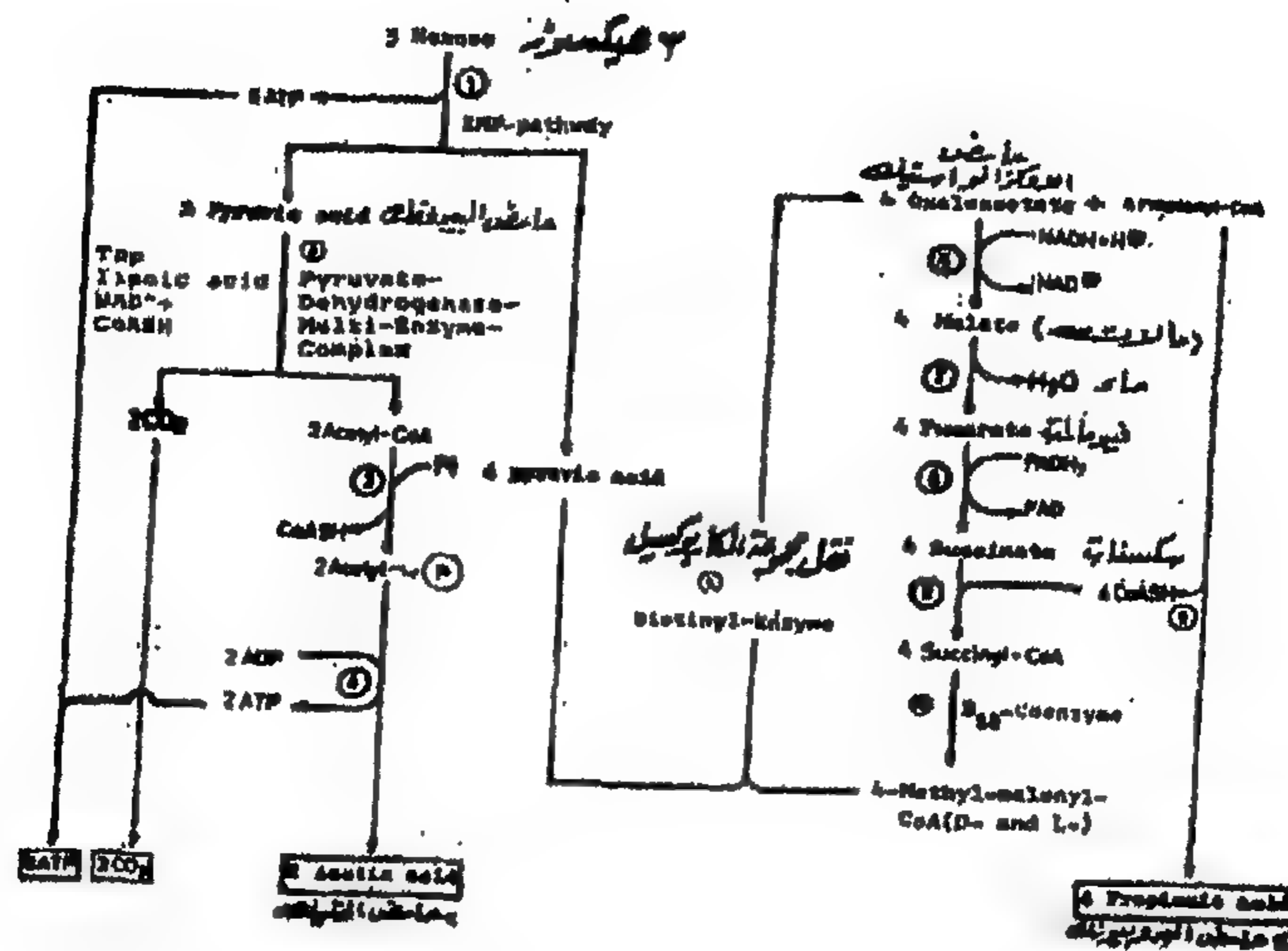


أما المراحل الوسطية لهذا الإختمار فيمكن توضيحها في المخطط 3-13

ففي الخطوة الأولى تتحول ثلاث جزيئات سكر سداسي الكربون إلى ست جزيئات حامض البيروفيك بمسلك EMP وينتج عن العملية 6 جزيئات ATP.

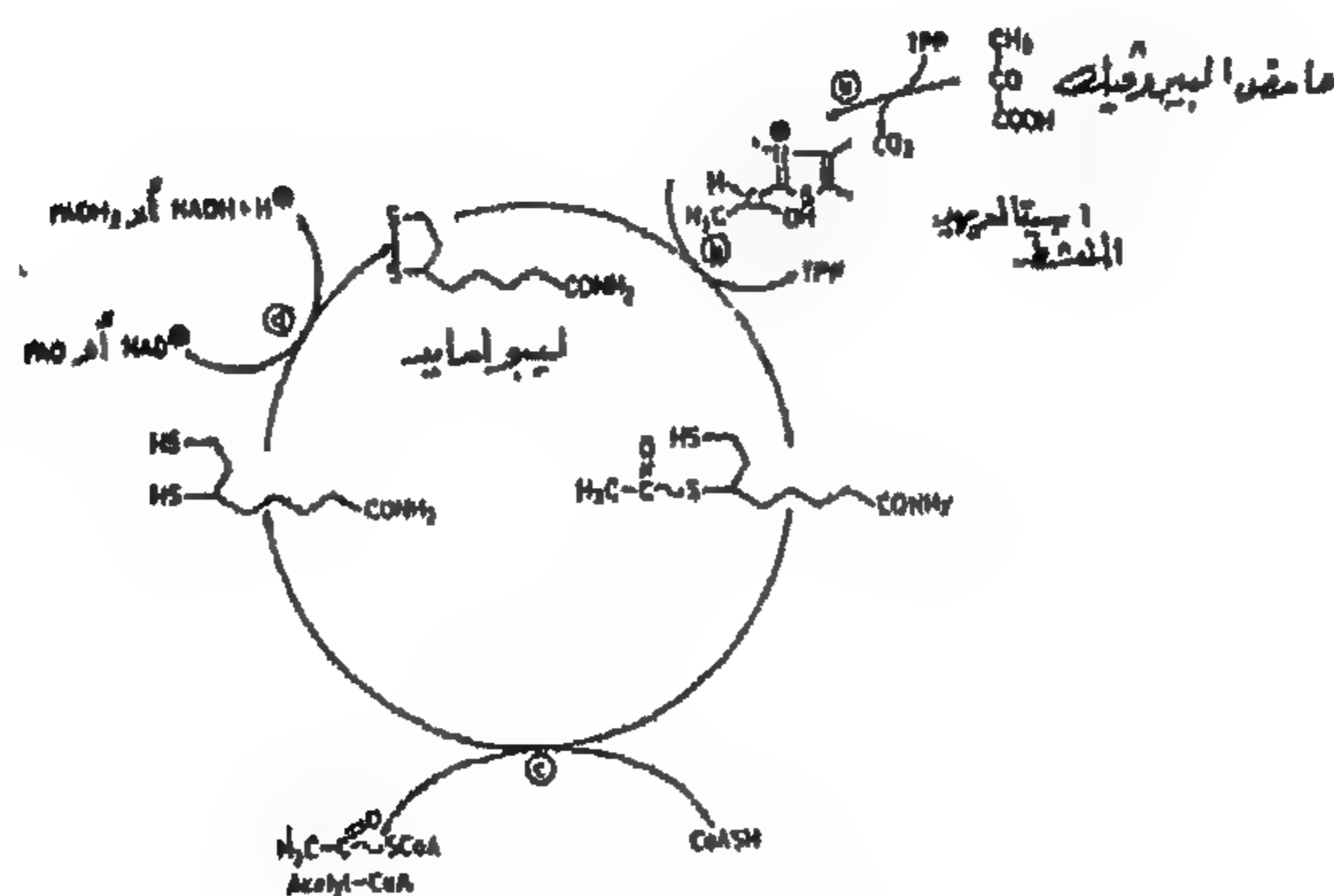
الخطوة الثانية: بفعل المعقد متعدد الأنزيمات Multienzyme Complex

المسمى Pyruvate dehydrogenase Complex



شكل (3-13) الاختصار المنتج لحمض البروبيونيك في جنس بكتيريا حامض البروبيونيك.

يعمل هذا المعقد على أكسدة حامض البيروفيك إلى استيل تميم الأنزيم (CoA Acetyl)A و CO_2 ويشترك في هذا التفاعل ثلاثة أنزيمات شكل (3-14).



... (3-14) تحويل حامض البيروفيك إلى Acetyl- CoA

بواسطة المعقد متعدد الانزيمات (Bruchmann, E., E., 1979) Pyruvate- dehydrogenase Complex

في الخطوة a من الشكل (3-14) تنتزع مجموعة الكربوكسيل من البيروفات بوجود الأنزيم Pyruvate dehydrogenase والتميم الأنزيمي (TPP) $\text{CH}_3\text{-CHOH-TPP}$ وينتج استيالدهيد فعال Thiamine pyrophosphate يسمى الفا- هيدروكسي اثيل- TPP وفي الخطوة b وبفعل الأنزيم Dihydrolipoyltransacetylase والتميم الأنزيمي Lipoamide يؤكسد الاستيالدهيد الفعال إلى استيل لبواميد Acetyl lipoamide ويتحول الأخير في الخطوة c إلى Acetyl CoA و Lipoamide بواسطة الأنزيم ذاته وبوجود التميم الأنزيمي (Coenzyme A) وفي الخطوة d يتحول اللبواميد المختزل Reduced lipomide بواسطة الأنزيم Dihydrolipoyl dehydrogenase والتميمين الأنزيمين FAD و NAD^+ على التوالي، إلى حالته المؤكسدة. تتم هذه العملية في الأيض الهوائي بوجود فلافوبروتين ذي المجموعة الضميمة FAD كما ذكرنا أما في الإختمار اللاهوائي المؤدي إلى حامض البروبيونك فمن المحتمل أن يكون NAD^+ المستقبل المباشر لذرات الهيدروجين من اللبواميد المختزل. وبعد ثاني أوكسيد الكربون المتحرر ناتجاً نهائياً بعد إزالة الهيدروجين من البيروفات في الإختمار المنتج لحامض البيروبيونك.

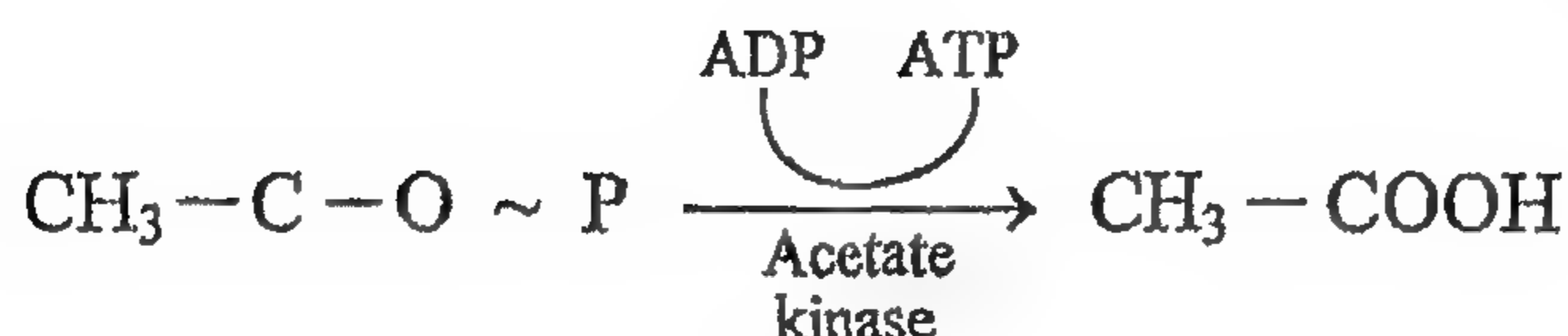
الخطوة الثالثة: يتحول Acetyl-CoA إلى Acetylphosphate بواسطة الأنزيم phosphate acetyl transferase.



Phosphate- Acetyltransferase

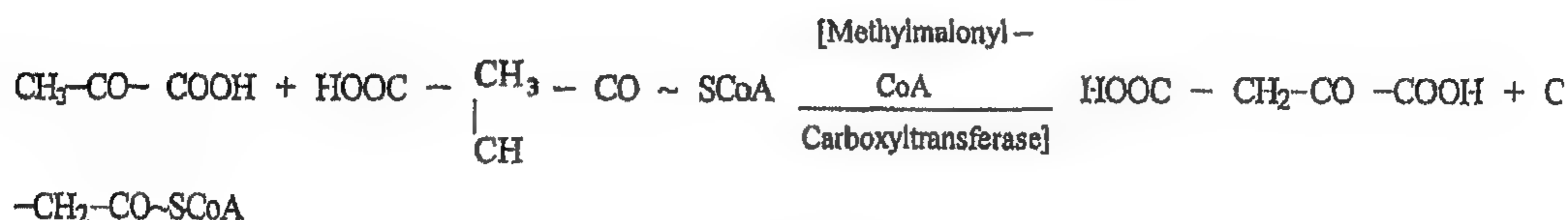
... (3-73)

الخطوة الرابعة: يتحول فسفات الاستيل Acetyl-p إلى حامض الاستك في الوقت الذي تنتقل مجموعة الفسفات فيه إلى المركب ADP لتكوين ATP وتتم العملية بوجود الأنزيم Acetate kinase وبهذا يتكون ATP في هذه الخطوة إضافة إلى ما تكون في مسلك EMP.



... (3-74)

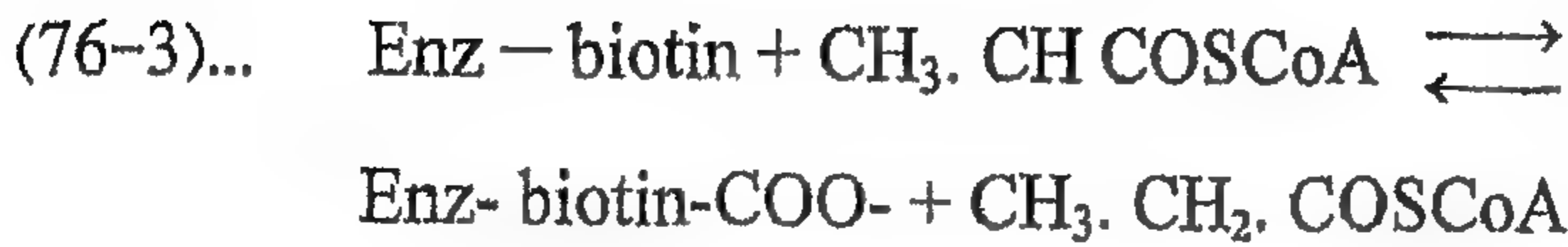
الخطوة الخامسة: يتكون حامض البروبيونيك في البكتريا Propionic-bacteria نتيجة لنقل مجموعة الكربوكسيل Transcarboxylation بين حامض البيروفاك والمركب: Methylmalonyl-CoA



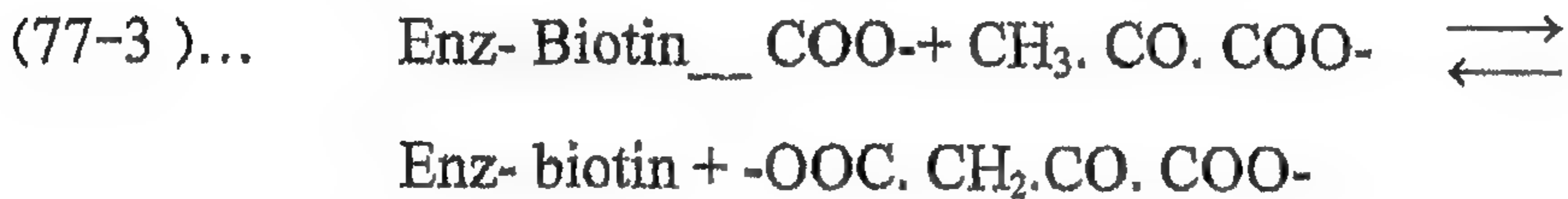
... (3-75)

يحفز التفاعل الأنزيم Methylmalonyl CoA: Pyruvate Carboxyltransferase ذو التخصص المطلق للركيبتين. يمثل هذا التفاعل نوعاً نادراً من التفاعلات إذ تنتقل مجموعة الكربوكسيل من ركيبة إلى أخرى وتتم العملية على مرحلتين ويسهم البيوتين في العملية بارتباطه تساهمياً بمجموعة الكربوكسيل المنقولة وكما يأتي:

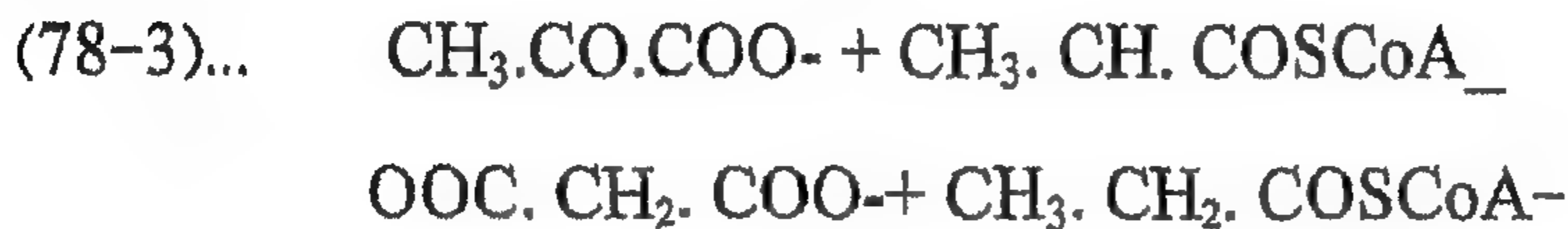
المرحلة الأولى يتم فيها انتقال مجموعة الكربوكسيل من المركب
CoA Methylmalonyl إلى البيوتين المرتبط بالأنزيم ويتكون نتيجة لذلك
Enz-biotin-COO- و Propionyl CoA
COO-



وفي المرحلة الثانية يتم انتقال مجموعة الكربوكسيل من البيوتين المرتبط
بالأنزيم إلى البيروفات وينتج عن العملية تكوين الاوكزالوستات.



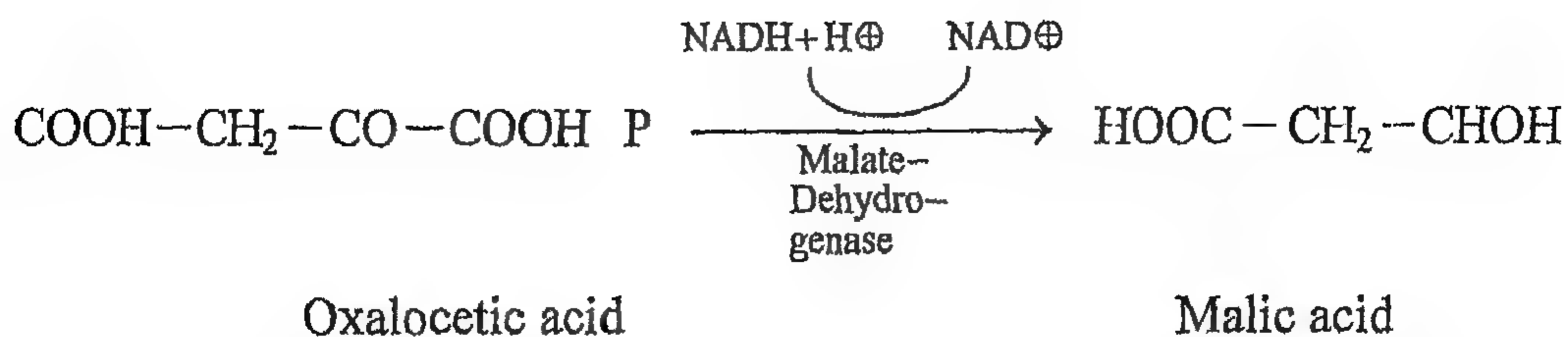
وبذلك تكون محصلة المرحلتين إنتاج Propionyl CoA واوكزالواستات:
COO-



وفي أحياء مجهرية أخرى لا تتم عملية نقل الكربوكسيل إلى البيروفات
نتيجة لفعالية الأنزيم الناقل للكربوكسيل المذكور أعلاه
Carboxyltransferase Transcarboxylase وإنما نتيجة لتثبيته Fixation وسوف
يتم توضيح ذلك في الإختصار المنتج لحامض السترك.

الخطوة السادسة: يدخل الأوكزالواستات المتكون في الخطوة السابقة سلسلة
تفاعلات تؤدي إلى توليده من جديد ليعمل واهباً للكربوكسيل مرة أخرى.

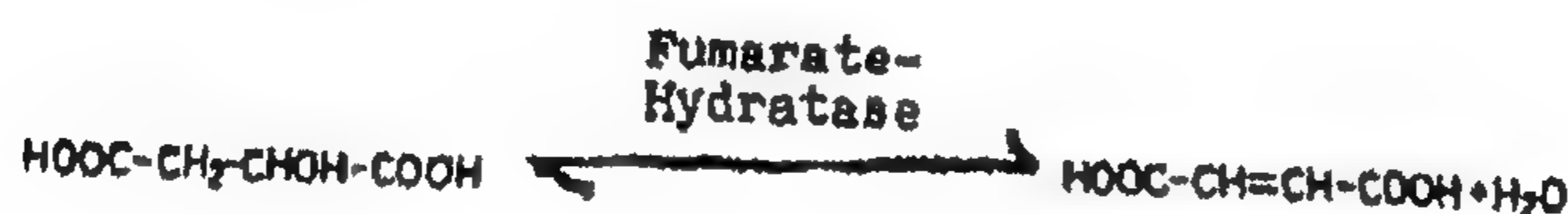
إن التفاعل الأول هو اختزال الاوكزالواستات إلى المالات بمساعدة الأنزيم
(L- Malate:NAD- oxidoreductase) Malate dehydrogenase



(79-3)

الخطوة السابعة: يتحول حامض المالك إلى الفيومارك بفعل الأنزيم L-

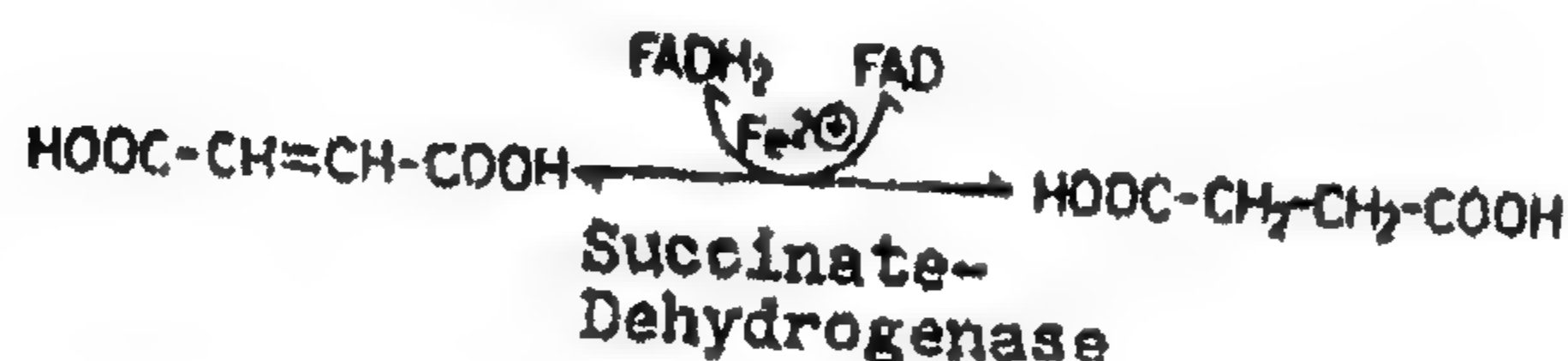
Malate- Hydrolyase Fumarate hydratase



(80-3) ...

الخطوة الثامنة: يتحول حامض الفيومارك إلى السككسك نتيجة لهدرجته

تحت تأثير الأنزيم Succinate dehydrogenase



(81-3) ...

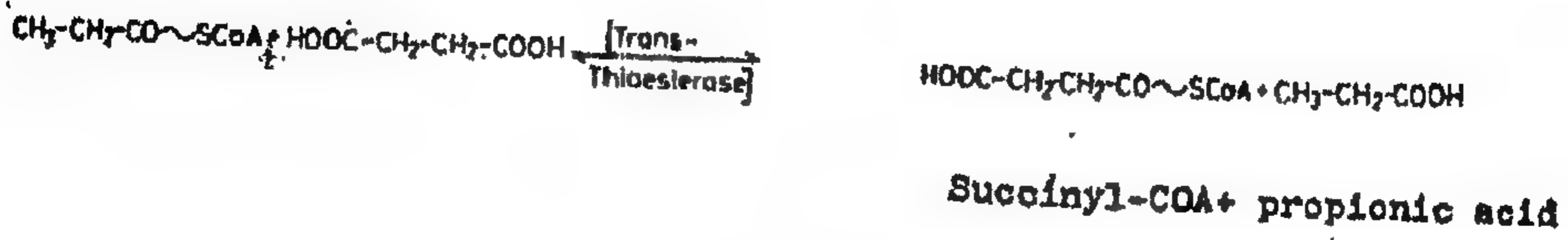
يحتاج الأنزيم في عمله إلى FAD بوصفه مجموعة ضميمية Prosthetic

group والأيونات Fe^{2+} بوصفها تميما معاملا Cofactor.

الخطوة التاسعة: يتفاعل حامض السككسك المتكون في الخطوة الثامنة

مع Propionyl-CoA المتكون في الخطوة الخامسة ويتم التفاعل بفعل الأنزيم

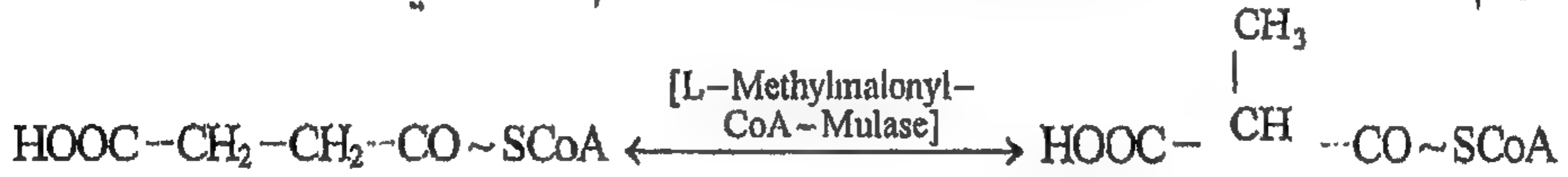
Trans- Thiosterase Succinyl CoA: Propionate CoA transferase ويؤدي إلى تكوين حامض البروبيونك كناتج للاختمار:



... (82-3)

وتجدر الملاحظة هنا أن سلسلة التفاعلات للخطوات (7) و(8) و(9) تحصل في الإتجاه المعاكس لها في دورة كريبس

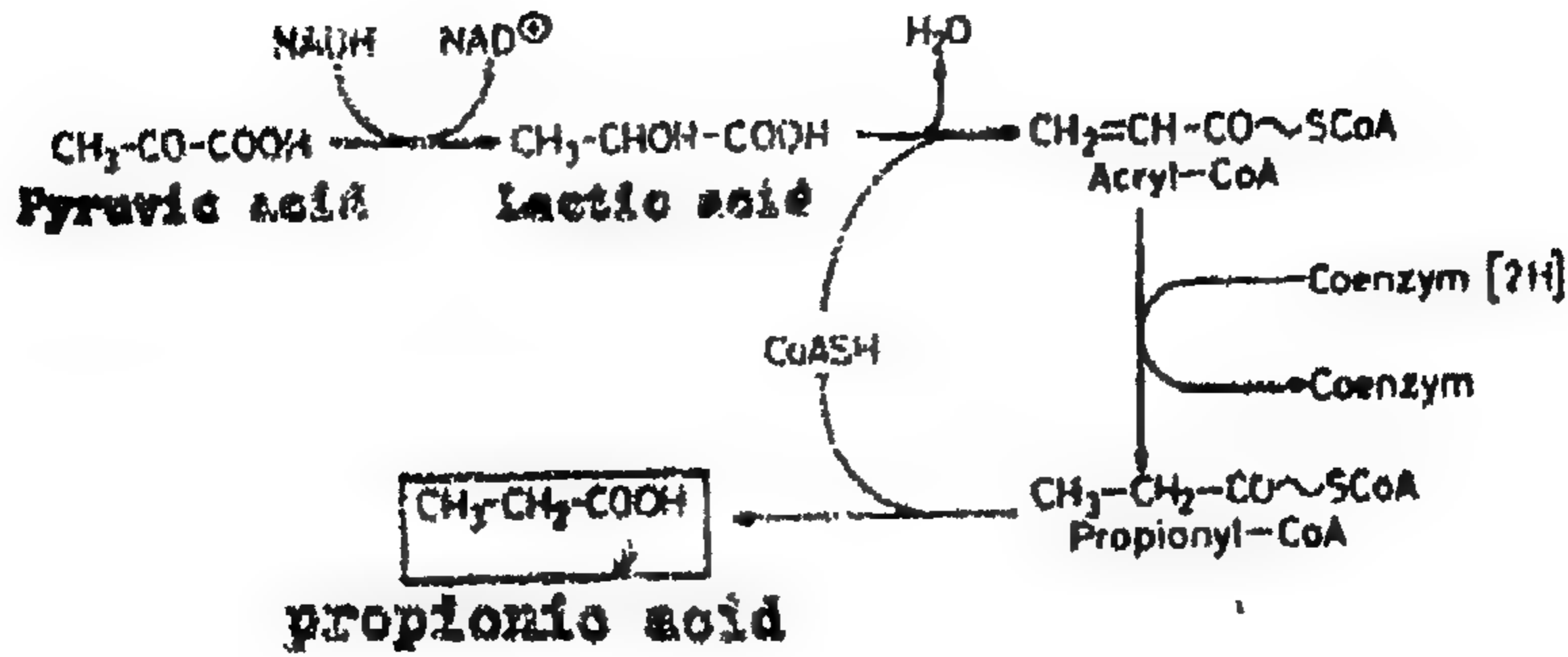
الخطوة العاشرة: يتحول Succinyl CoA إلى Methylmalonyl CoA بفعل الأنزيم L-Methylmalonyl CoA mutase والتميم الأنزيمي Vitamin B¹²:



... (83-3)

وبذلك يعاد توليد المركب Methylmalonyl CoA ليعمل مانحاً للكربوكسيل في تفاعلات نقل الكربوكسيل (انظر الخطوة الخامسة).

تتم سلسلة الخطوات المذكورة لإنتاج حامض البروبيونك في جنس بكتريا حامض البروبيونك Propionic acid bacteria ويختلف عما يحصل في جنس الكلوستريديوم Clostridium propionicum وحيث يحصل الإختمار عبر حامض اللاكتك و Acryl CoA يوضح (شكل 3-15) المسلك المحتمل للاختمار المنتج لحامض البروبيونك في البكتريا Cl.Propionicum.



شكل (3-15) المسلك المحتمل للاختصار المنتج لحامض البروبيونك في البكتيريا

Cl. Propionicum

3-1-1-6 الاختصار المنتج للكحولات العليا

ينشأ عن الإختصار الكحولي في الخميرة مركبات تسمى الزيوت الكحولية Fusel oil وهي مزيج من مركبات صعبة التطاير وتضم الكحولات العليا والأحماض والاسسترات والالدهيدات والاسيتالات ومنها 1-methylbutan-3-ol Isoamylalcohol و 1-methylbutan-2-ol.

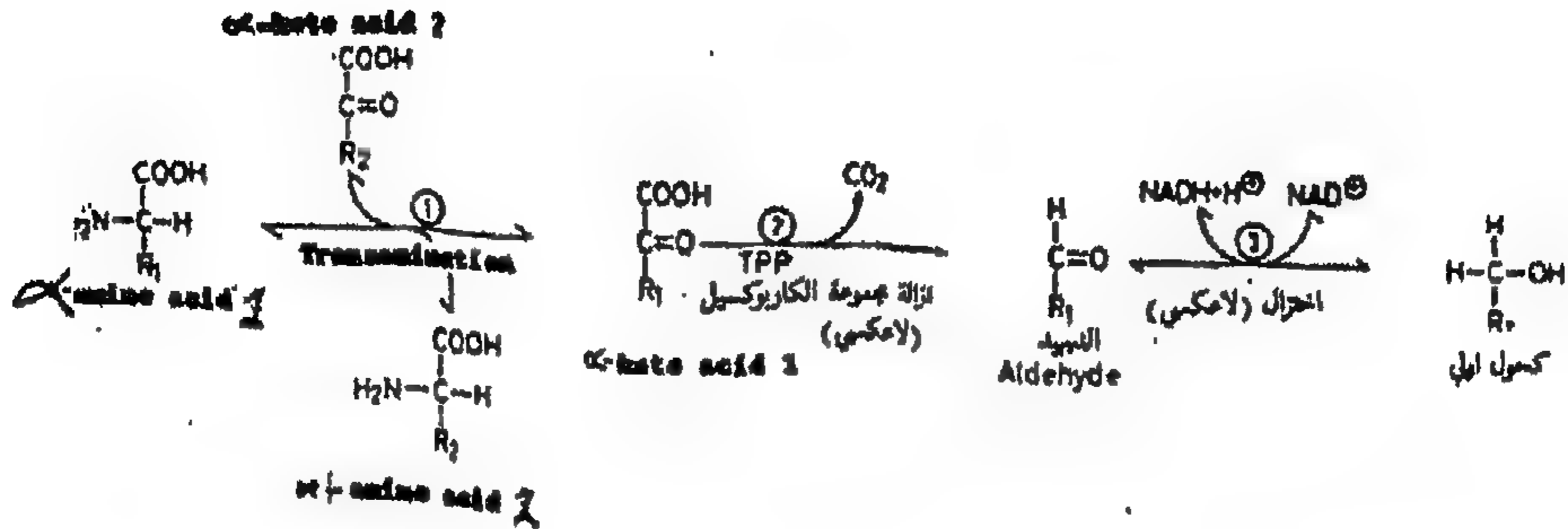
للمركبات التابعة للزيوت الكحولية تأثير كبير في نكهة النبيذ والبيرة والكونياك.

إضافة إلى الكحولات الإليفاتية العليا، تحتوي الكحولات الزيتية على كحولات اروماتية مثل β -phenylethyl alcohol و p-phenylethyl alcohol (Tyrosol) و Hydroxyphenylethyl وتسمى جميعها fusel alcohols.

من المعروف أن الكلسيرول يتكون بوصفه ناتجا ثانويا في الإختصار الكحولي بسلك EMP (تحلل السكر، Glycolysis) في بعض الأحياء المجهرية كالخميرة إلا أن آلية تكون الكحولات العليا في أيض الكربوهيدرات غير معروفة. ولقد أوضح كل من F.Ehrlich و Neubauer و Fromherz و Genevois

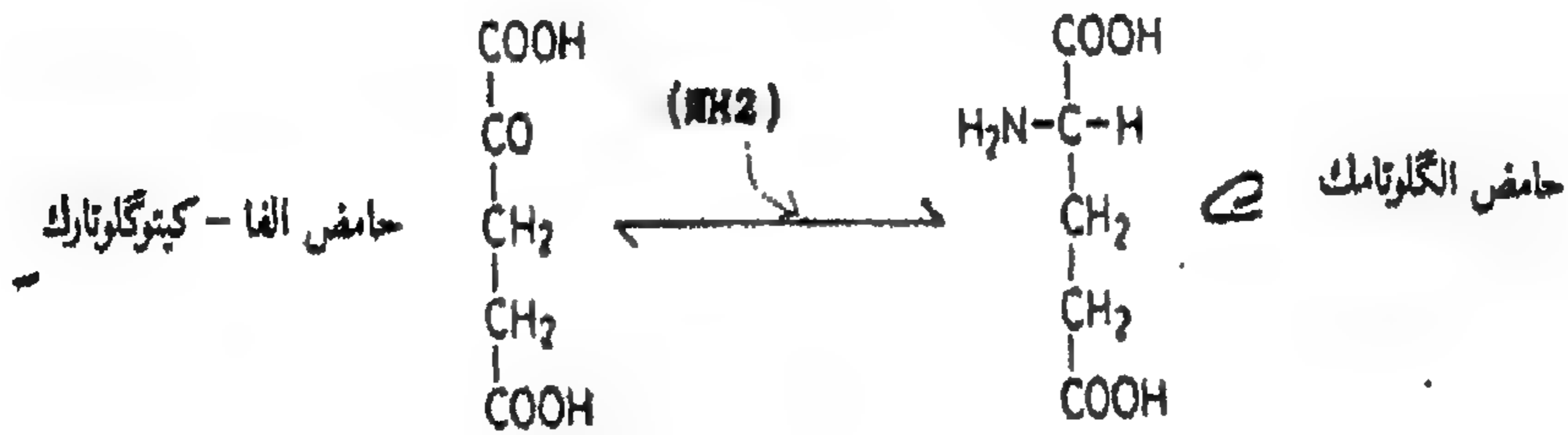
وآخرين بأن أيض الأحماض الأمينية يلعب دوراً حاسماً في تكوين الكحولات العليا.

يمكن تبيان كيفية تكوين هذه الكحولات من الأحماض الأمينية المناسبة في الشكل 3-16.



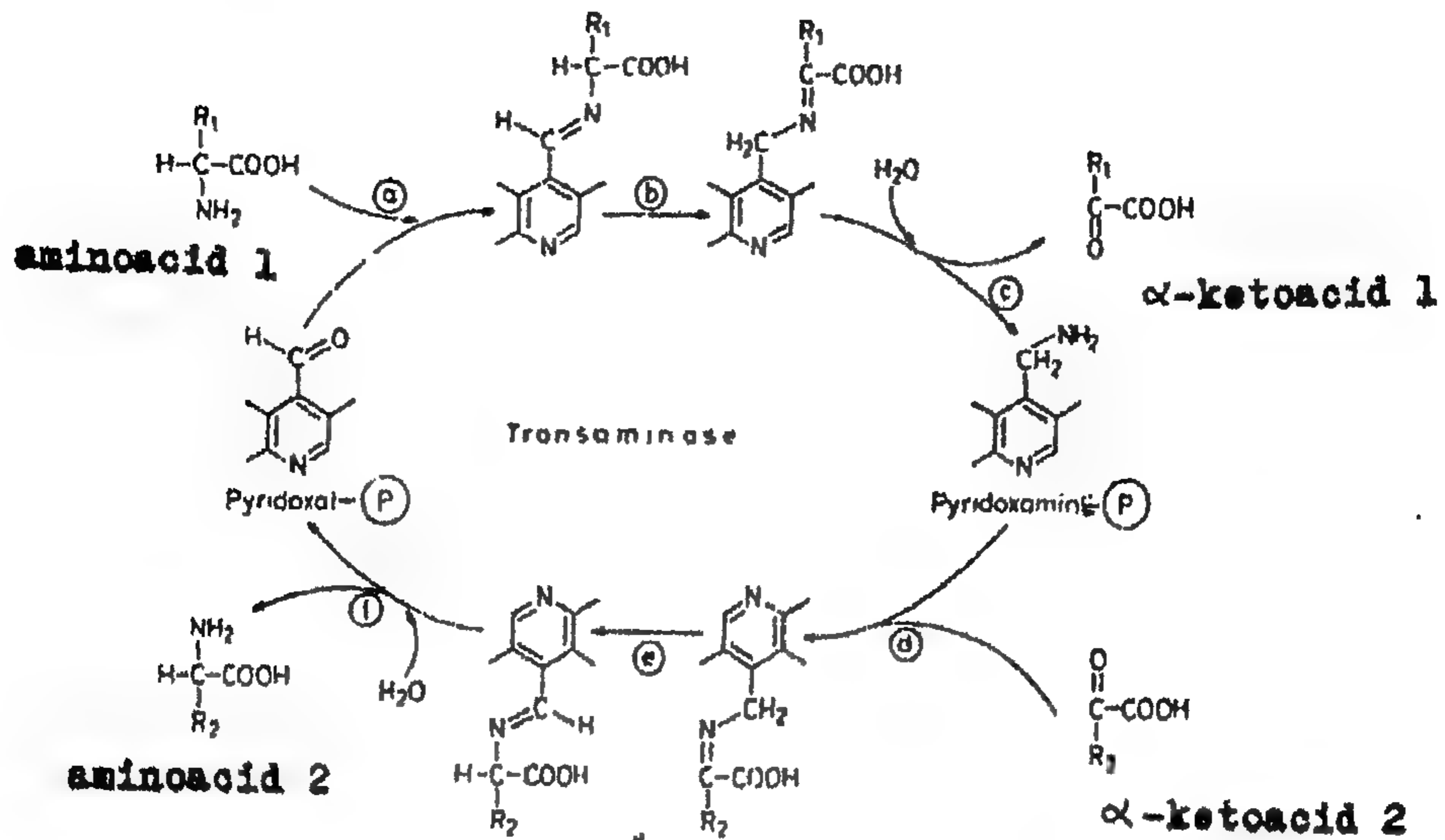
شكل (3-16) تكوين الكحولات العليا من الأحماض الأمينية المناسبة.

ففي الخطوة الأولى تنقل مجموعة الاميتو من الحامض الأميني إلى حامض الفا- كيتو ويكون عادة α -ketoglutaric acid ويتحول بدوره إلى حامض الكلوتامك:



... (3-84)

يسهم فوسفات البيرييدوكسيل Pyridoxal Phosphate في عملية نقل المجموعة الأمينية وكما يوضح ذلك الشكل (3-17).



شكل (3-17) تفاعلات نقل مجموعة الأمين وإسهام فسفات البيريدوكسال فيها ولتوضيح

الشكل (3-17) نتابع الخطوات a ← f

(a) يكون الحامض الأميني مع التميم الأنزيمي Pyridoxal phosphate ما يسمى بقاعدة شيف Schiff base

(b) و (c) بعد تحويل موقع الآصرة المزدوجة في قاعدة شيف يتم تحرير الحامض الفا- كيتو رقم (1) بالتحلل المائي ويتكون كذلك فسفات البيريدوكسامين phosphate Pyridoxamine.

(d) يتفاعل الحامض الفا- كيتو رقم (2) مع فسفات البيريدوكسامين لتكوين قاعدة شيف من جديد.

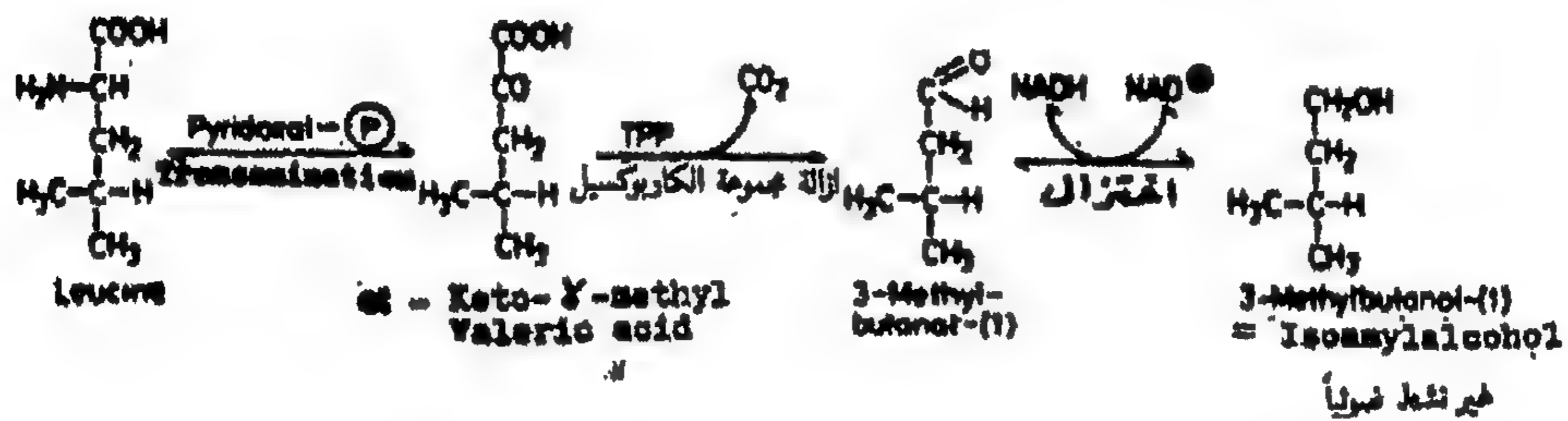
(e) (f) بعد تحويل موقع الآصرة المزدوجة والتحلل المائي، ينفصل الحامض الأميني رقم (2) ويتحرر فسفات البيريدوكسال من جديد وهكذا تستمر العملية. الخطوة الثانية في تكون الكحولات العليا من الأحماض الأمينية:

تزال مجموعة الكربوكسيل من الحامض الفا- كيتو حال تكونه وتتم العملية بوجود Thiamine Pyrophosphate وينتج عن العملية الدهيد.

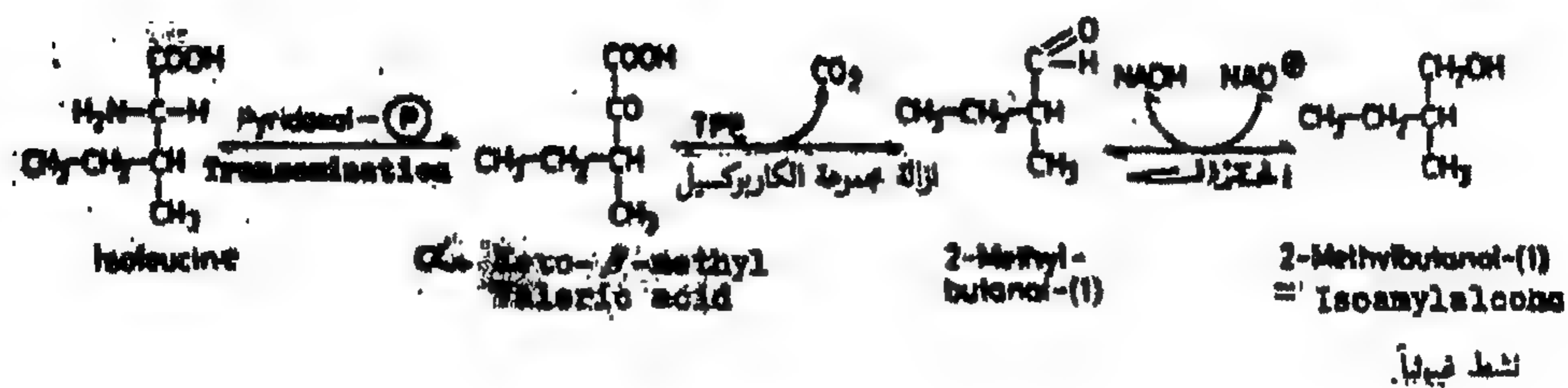
الخطوة الثالثة: يختزل الدهيد الناتج إلى كحول أولي بوجود

NAD⁺- Specific dehydrogenase ومن الجدير بالذكر أن الكحول الناتج تنقصه ذرة كربون إذا ما قورن بالحامض الأميني المتكون منه نتيجة لفقدان CO₂. إن الموازنة في التفاعل الأخير هذا تكون في صالح تكون الكحول في الخميرة نتيجة للرقم الهيدروجيني الحامضي الضعيف.

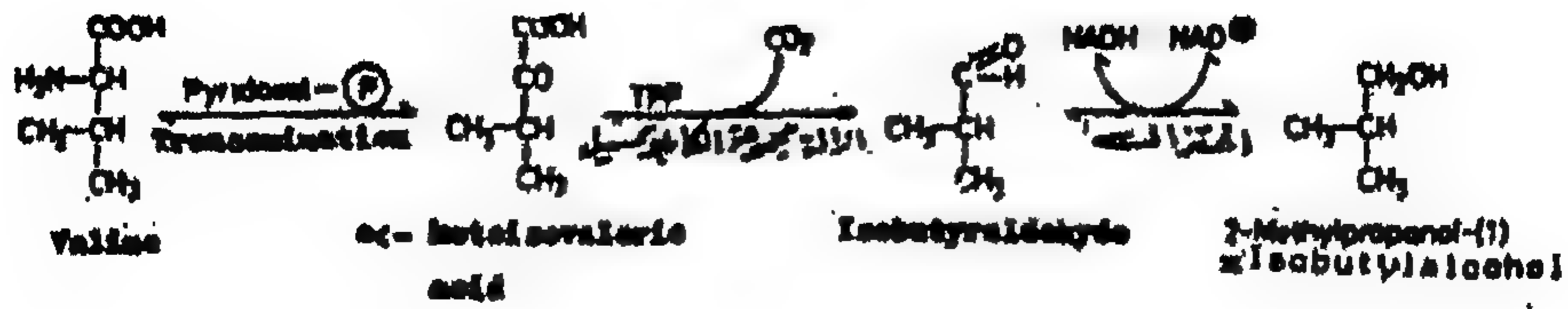
توضح المعادلات الآتية تكون أهم الكحولات العليا Fusel alcohols من الأحماض الأمينية المناسبة.



(85-3) ...



(86-3) ...



... (87-3)

3-1-1-7 اختصار أحماض الثمار

يقصد بأحماض الثمار كل من حامض المالك L-Malic acid وحامض التارتريك Tartaric acid وحامض الستريك Citric acid.

توجد هذه الأحماض بصورة طبيعية في الفواكه ويكون حامض المالك أكثرها انتشارا ويكون حامض الستريك موجودا معه عادة. أما حامض التارتريك فيوجد بكميات كبيرة في العنب.

يعد حامض التارتريك إضافة إلى الستريك من المواد المنكهة في معامل الأغذية ويتكون عادة بوصفه ناتجا ثانويا في الإختصار الكحولي في العنب حيث يترسب في هذه العملية بشكل بوتاسيوم هيدروجين تارتارات ويمكن فصله بعد ذلك.

يمكن إنتاج حامض الستريك في الصناعة بكميات كبيرة بعملية التخمير بواسطة *Aspergillus niger* علما بأنه لا يوجد في الوقت الحاضر دور يذكر لإنتاج حامض الستريك من الفواكه الحمضية.

يلعب اختصار حامض الستريك بواسطة البكتريا، دورا مهما في تصنيع بعض منتجات الألبان وكمثال لتكوين المركب Acetone الذي ينشأ منه المركب Deacetyl الذي يعد بدوره من المركبات التي تكسب الزبدة نكهة لذيذة.

يتحلل حامض التارتريك بصعوبة كبيرة جدا تحت الظروف اللاهوائية ولذا لا يلعب اختصاره دورا يذكر عند صناعة النبيذ من العنب.

الاختمار اللاهوائي لحامض المالك؛

تسبب بكتيريا حامض اللاكتك مثل *Micrococcus maldacticus* و *Micrococcus acidovorax* و *Bacterium gracile* نكوص حامض المالك لاهوائيا في النبيذ ويتم ذلك بإزالة الكربوكسيل من حامض المالك وتكوين حامض البيروفك ثم اختزال الأخير إلى حامض اللاكتك (شكل 3-18).

يتم التحول المباشر لحامض المالك إلى البيروفك بواسطة الأنزيم: L-Malate (NADP Oxidoreductase (decarboxylating) أي ما يسمى Malic enzyme) تفاعل رقم 1 شكل 3-18) أما اختزال حامض البيروفك إلى اللاكتك فيتم بفعل الأنزيم Lactate dehydrogenase.

يمكن كذلك تحويل حامض المالك إلى البيروفك على مرحلتين وذلك بإزالة ذرتي هيدروجين من الجزيئة أولا بفعل الأنزيم Malate dehydrogenase المستخدم للتميم الأنزيمي NAD⁺ L- Malate: NAD Oxidoreductase.

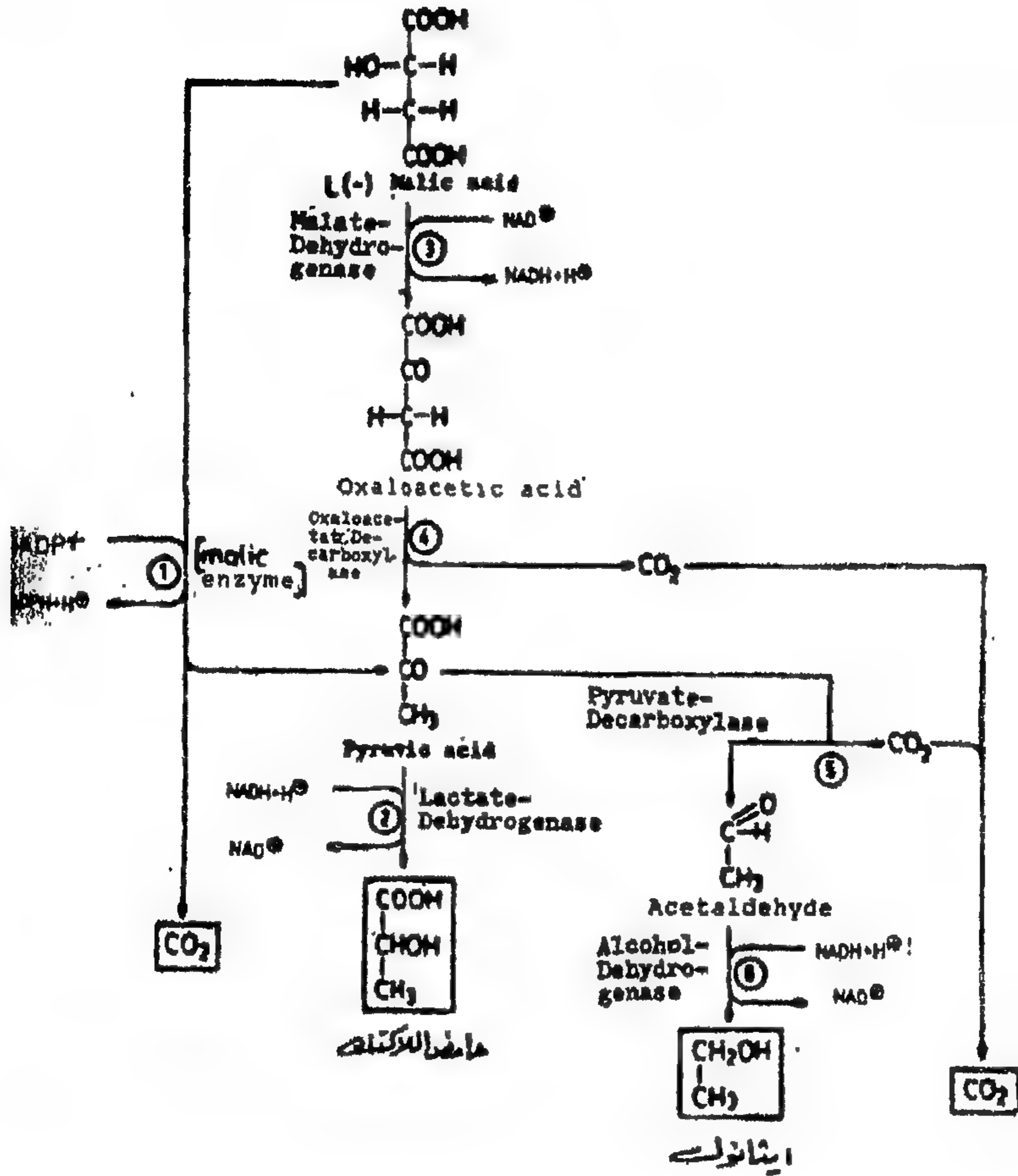
يتحول حامض الاوكزالواستك الناتج عن التفاعل أعلاه إلى حامض البيروفك نتيجة إزالة الكربوكسيل بفعل الأنزيم (Oxaloacetate Carboxylyase) Oxaloacetate dcarboxylase (انظر التفاعلين 3 و 4 شكل 3-18).

تستطيع بعض انواع من *Schizosacheromyces* تحويل الحامض المالك بالطريقة المذكورة إلى حامض البيروفك ثم إزالة الكربوكسيل من حامض البيروفك لتكوين الاستيالدهيد ثم اختزال الأخير إلى الإيثانول. إن الأنزيمين المسؤولين عن تكوين الإيثانول من حامض البيروفك هما Pyruvate decarboxylase و Alcohol dehydrogenase على التوالي.

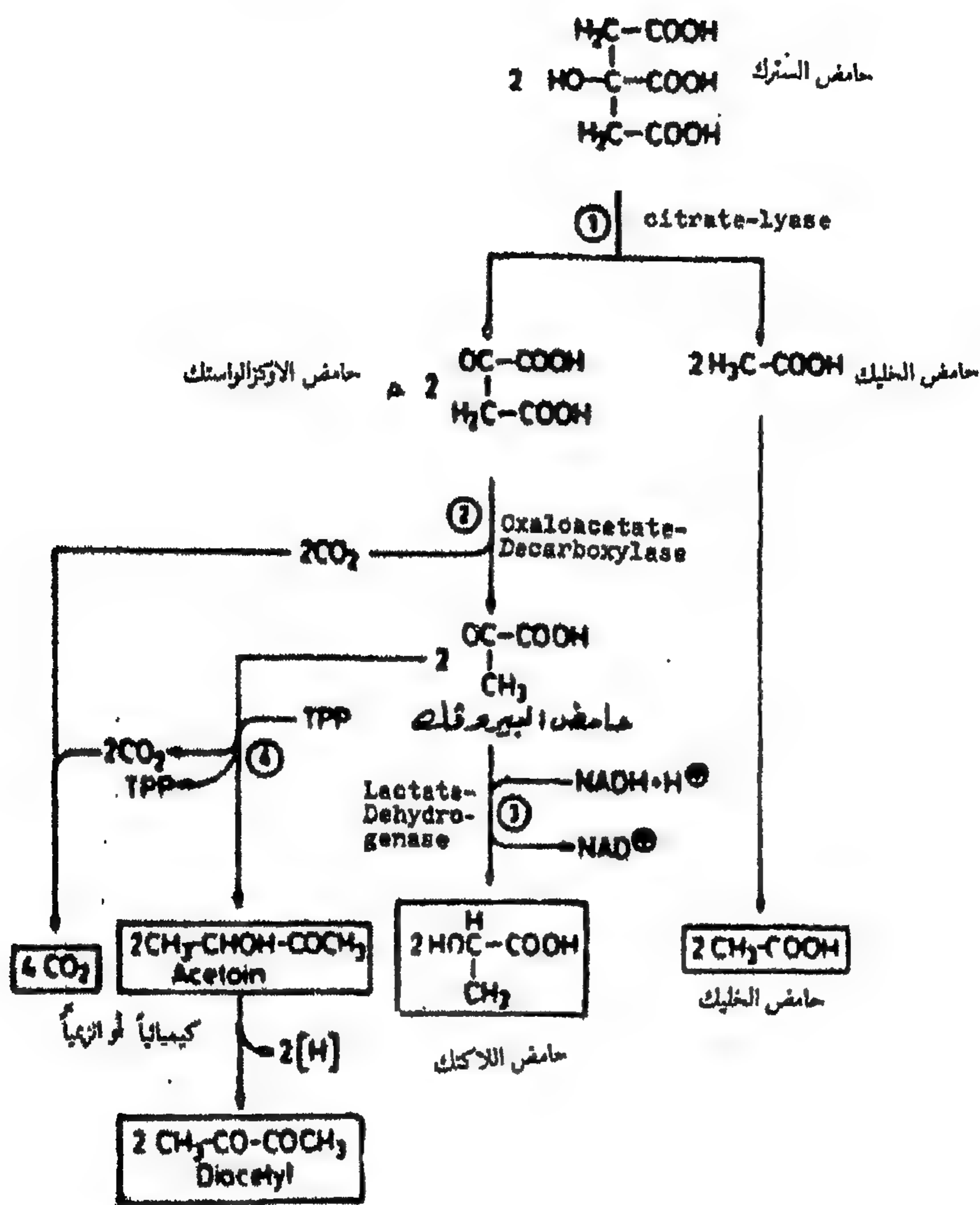
الاختمار اللاهوائي لحامض السترك؛

يتم نكوص حامض السترك (شكل 3-19) في أنواع بكتريا حامض اللاكتك *Streptococcus cremoris* و *S. lactis* و *Leuconostoc Citrovorum*

وينتج عن العملية حامض اللاكتيك والخليك والمركب Acetoin الذي يتكون منه المركب Diacetyl الذي يكسب الزبدة نكهتها.



شكل (3-18) التخمير اللاهوائي Anaerobic degradation لحامض المالك بواسطة بكتيريا حامض اللاكتيك وأنواع الـ Schizosaccharomyces.



شكل (3-19) النكوص اللاهوائي لحامض الستريك في أنواع بكتيريا حامض اللاكتك.

يبدأ هذا الإختمار بتحليل حامض الستريك إلى حامض الخليك وحامض الاوكزالواستك بفعل الأنزيم Citrate lyase (التفاعل 1، شكل 3-19) وعند إزالة الكريوكسيل يتحول الاوكزالواستك إلى البيروفك بواسطة الأنزيم boxy-lase Oxaloacetate decar. يختزل الجزء الأكبر من حامض البيروفك إلى حامض اللاكتك (تفاعل 3، شكل 3-19) وما تبقى منه يتكثف إلى Acetoin

عبر المركب α - Acetylactic acid وبمشاركة التميم الأنزيمي TPP، يتحول الاستوئين Acetoïn إلى "مركب النكهة" Diacetyl نتيجة للتأكسد الذاتي أو ربما نتيجة عمل أنزيم مزيل للهيدروجين.

لا يلعب الاختمار اللاهوائي لحامض السترك أو المالك دوراً يذكر في إنتاج الطاقة للكائن المجهرى وقد يكون بالإمكان إنتاج الطاقة على شكل ATP لو كانت عملية إزالة الهيدروجين والكربوكسيل من حامض البيروفيك مقرونة بوجود كل من TPP و CoASH و Lipoic acid و NAD^+ وعندئذ يكون بالإمكان تحويل Acetyl CoA الناتج إلى Acetylphosphate والمركب الأخير عالي الطاقة يمكن استخدامه لتخليق المركب ATP.

3-1-1-8 اختبارات أخرى

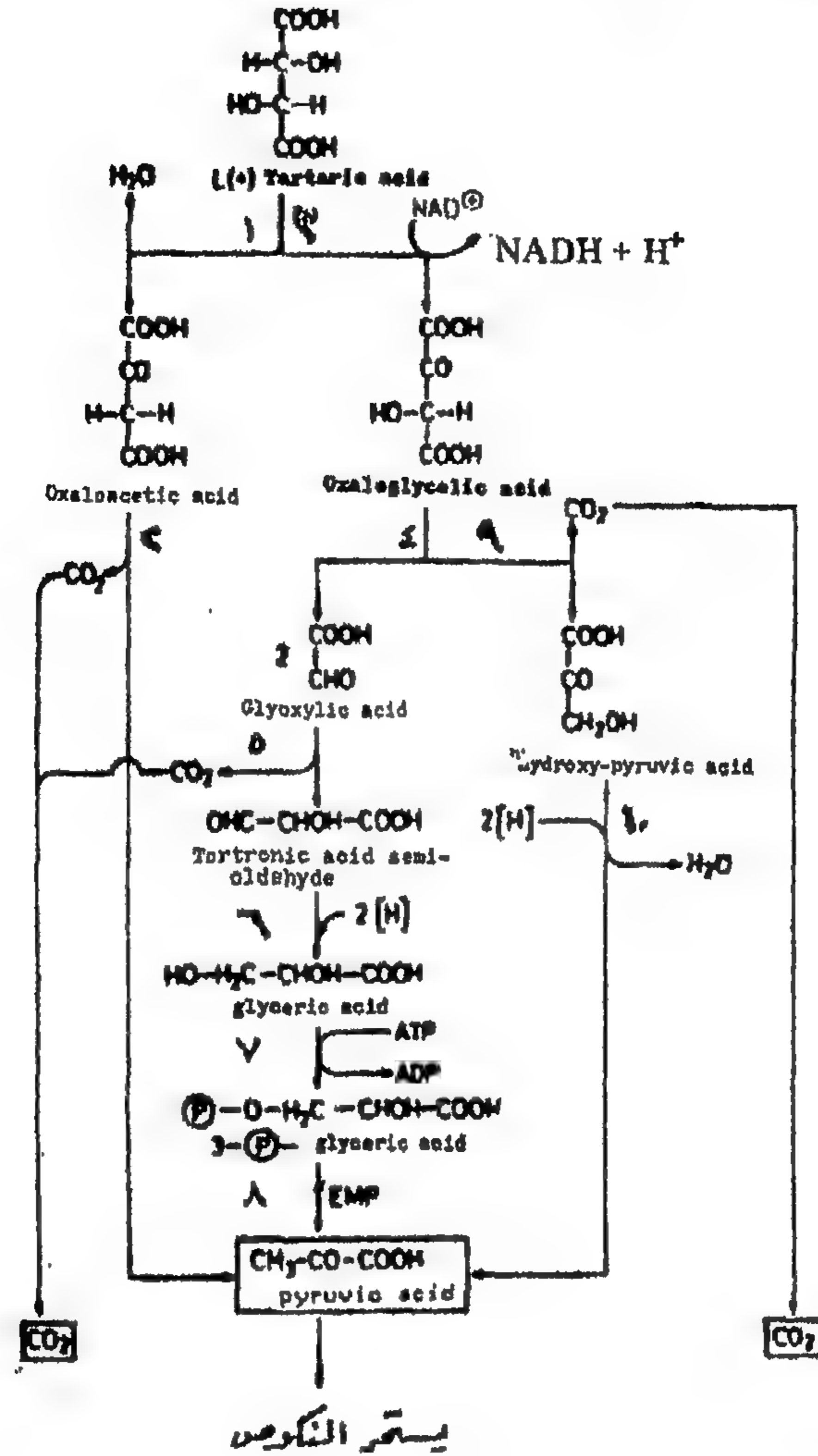
أ- اختمار حامض التارتارك؛

للكوص اللاهوائي Anaerobic degradation لحامض التارتارك أهمية كبيرة في تكنولوجيا النبيذ لو توفرت الأحياء المجهرية القادرة على تحويل حامض التارتارك إلى ايثانول و CO_2 ، ففي الوقت ذاته تزال الحموضة الناتجة من وجود حامض التارتارك في النبيذ كما تزداد نسبة الكحول فيه. ولقد افترض المخطط الآتي (شكل 3-20) لنكوص حامض التارتارك لاهوائياً.

أما تفاصيل المخطط المفترض فكما يأتي:-

الخطوة الأولى: تحول حامض التارتارك إلى حامض اوكزالواستك بعد إزالة جزيئة ماء منه ويتم هذا التفاعل في البكتريا *Pseudomonas Putida*.

الخطوة الثانية: تزال مجموعة الكربوكسيل من الحامض اوكزالواستك لتحويله إلى بيروفات ولقد امكن الكشف عن وجود هذا التفاعل في عدد من الأحياء المجهرية.



شكل (3-20) المخطط المفترض لنكوص Degradation حامض التارتريك لا هوائياً.

الخطوة الثالثة: لوحظ بأن البكتريا *Pseudomonas acidovorans* قادرة على تحويل حامض التارتريك إلى Oxalglycolic acid بواسطة أنزيم مزيل الهيدروجين متخصص للتميم الأنزيمي (NAD-Specific dehydrogenase) NAD^+

الخطوة الرابعة: يستطيع المركب Oxalglycolic acid أن يتحلل بطريقة كيميائية صرفة إلى جزيئين من Glyoxylic acid

الخطوة الخامسة: تتكاثف جزيئتان من Glyoxylic acid مع فقدان CO_2 لتكوين Tartonic acid semialdehyde

الخطوة السادسة: يختزل Tartronic semialdehyde إلى Glyceric acid

الخطوتين السابعة والثامنة: يتحول Glyceric acid إلى 3-Phosphoglyceric acid الذي يدخل مسلك EMP (امدن- مايرهوف بارناس) لتحلل السكر ويتحول فيه إلى حامض البيروفك.

الخطوة التاسعة: يستطيع المركب Oxaloglycollic acid الناتج في التفاعل (3) أن يتحول إلى حامض البيروفك عن طريق إزالة مجموعة الكربوكسيل أولاً حيث يتحول إلى Hydroxypruvic acid وفي تفاعل لاحق (الخطوة العاشرة، شكل 3-20) يختزل الحامض الناتج إلى حامض البيروفك.

يمكن لحامض البيروفك أن يتحول إلى مركبات أخرى وتبعاً لنوع الأحياء المجهرية التي يحصل فيها التحول. فمثلاً يمكن أن يختزل إلى حامض اللاكتك، أو يتحول إلى استيالدهيد بعد إزالة مجموعة الكربوكسيل ويختزل الاستيالدهيد إلى الايثانول. وفي صناعة المشروبات الروحية يفضل تحول حامض البيروفك إلى الايثانول

ب- الاختمار المنتج للميثان؛

الاختمار المنتج للميثان نوع آخر من الاختمار اللاهوائي يكون المتقبل النهائي للالكترونات فيه مركباً غير عضوي ويعتقد بأن تثبيت الطاقة فيه يتم بالفسفرة على مستوى الركيزة وليس عن طريق السلسلة التنفسية.

تبدأ سلسلة تفاعلات الاختمار المنتج للميثان باستخدام الركائز الناتجة عن أنواع الاختمارات الأخرى كالخلاات والبيوترات والفورمات والفاليرات Valerate والكبروات Caproate.

وتستخدم كذلك جزيئات الهيدروجين الناتجة في الاختبارات الأخرى بوصفها مصدراً لمكافئات الاختزال.

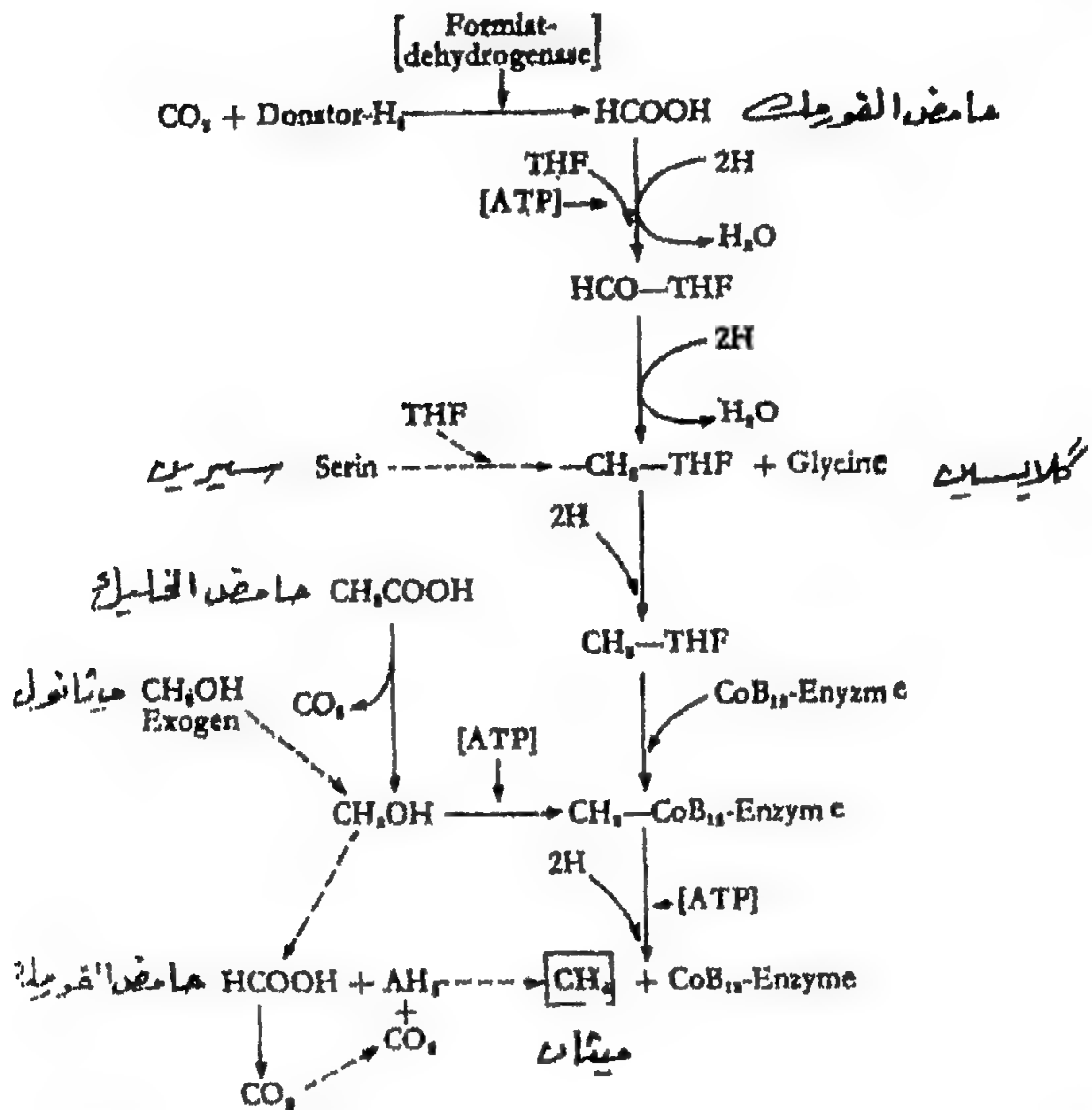
يُحصل الاختمار المنتج للميثان في بكتريا الميثان Methano bacteriom ويلعب دوراً كبيراً في اختمار الفضلات الصناعية وكمثال الفضلات الصناعية للمعامل والحاوية على السيليلوز كفضلات معامل الأغذية.

يوضح الجدول الآتي أنواعاً مختلفة من بكتريا الميثان والركائز التي تعمل عليها ومصدر ذرات الكربون في الميثان الناتج.

جدول 3-4 الركائز المستخدمة من قبل بكتريا الميثان في الاختمار المنتج للميثان.

مصدر ذرات الكربون في الميثان	الركائز المستخدمة	الأحياء المجهرية
CO ₂	H ₂ CO ₂ Formate	Mrtbanobacterium formicum
CO ₂	Butyrate. Valerate Caproate	Metbanobacterium suboxydans
CO ₂	H ₂ ethanol, prim.& sce. Altohole	Metbanobacterium omelianskii
CO ₂ , CO	H ₂ . CO ₂ Methanol. Ethanol. Acetate	Metbanosarcina barkeri
⁻ CH ₃	Acetate, CO ₂ . Butyrate	Metbanobacterium sobngenii
-CH ₃	Acetate, Methanol. Buryrate	Metbanosarcina metbanica

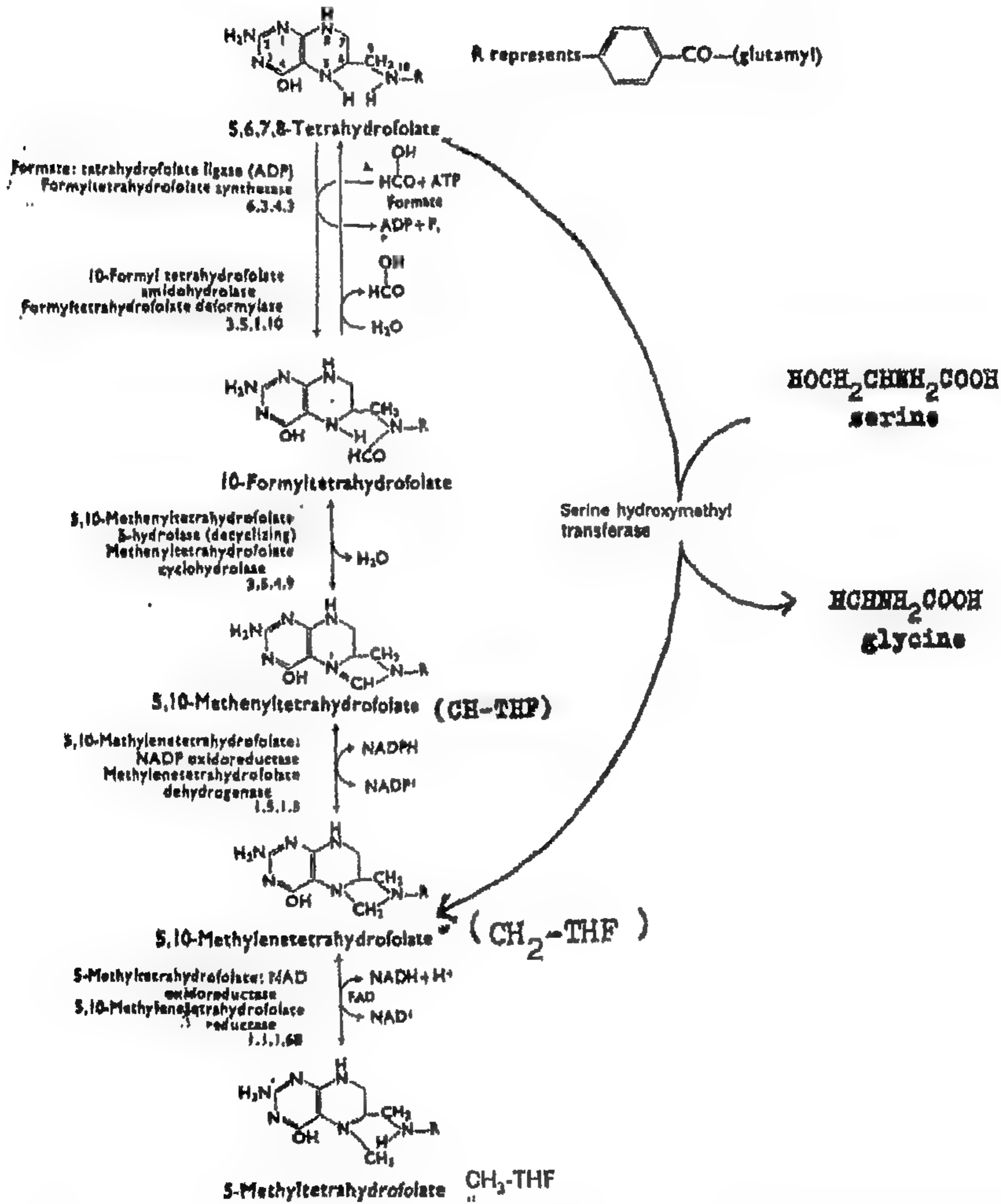
يجري التخمر المنتج للميثان بصورة عامة بحيث تنقل مكافئات الاختزال (ذرات الهيدروجين أو الإلكترونات) من الركيزة إلى CO₂ أو مجاميع المثيل وبذلك تختزل هذه المركبات إلى ميثان (CH₄). تتمثل المركبات الواهبة لذرات الهيدروجين أو الإلكترونات في H₂ و CO و Methanol و Acetate و Formate و Butyrate و Caproate وإذا استخدم CO₂ بوصفه متقبلاً نهائياً لذرات الهيدروجين، فيحصل



شكل (3-21) تكوين الميثان من CO_e أو الميثانول أو الخلايا بواسطة بكتيريا الميثاق.

كما تتقل مكافئات الاختزال بفعل المركب ATP مباشرة من التميمم الأنزيمي B₁₂ إلى مجموعة المثيلية أو الخلايا في الحالات التي يكون فيها مصدر كربون الميثان عن الميثانول أو الخلايا عوضاً عن (CO₂) علماً بأن THF لا يلعب في هذه الحالة دوراً يذكر (شكل 3-21). يتضح من الشكل (3-21) الدور

الأساس لرباعي هيدرو حامض الفوليك (THF) في الاختصار المنتج للميثان والمستخدم CO_2 بمثابة ركيزة. يوضح الشكل الآتي (3-22) الصيغ النشطة المختلفة لهذا التميمم الأنزيمي HCO-THF و $\text{CH}_2\text{-THF}$ و $\text{CH}_3\text{-THF}$ وتحولاتها كما يتضح في التفاعل الأول دور المركب ATP بوصفه واهباً للطاقة في تفاعل التخليق المحفز بالأنزيم Formyl tetrahydrofolate Synthetase



شكل (3-22) الصيغ النشطة المختلفة لرباعي هيدرو حامض الفوليك THF وتحولاتها ودورها في الاختصار المنتج للميثان. تبتدئ سلسلة التحولات بربط الفورمات بالتميمم الأنزيمي THF بفعل انزيم Synthetase متخصص

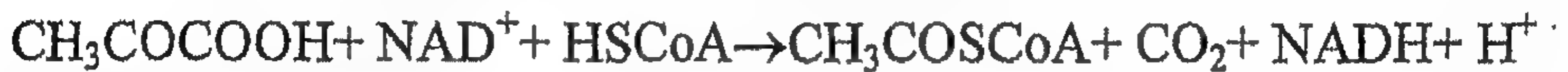
3-1-2 الاختمار الهوائي (التنفس) والتخليق الحيوي؛

تكون عملية التنفس أساساً لجميع الاختمارات الهوائية وتعد أهم آلية لإنتاج الطاقة. تتميز الاختمارات الهوائية بنقل مكافئات الاختزال (الكترونات أو ذرات هيدروجين) من المركبات العضوية خلال سلسلة من الجزيئات الناقلة إلى اوكسجين الهواء بوصفه متقبلاً نهائياً للالكترونات وتسمى سلسلة نقل الالكترونات بالسلسلة التنفسية وينتج عنها ATP وماء بعملية تسمى الفسفرة التأكسدية.

تكون المركبات الواهبة للالكترونات في الاختمار الهوائي، مركبات وسطية في دورة كريبس Krebs citric acid cycle إلا أن هناك مركبات أخرى تستطيع أن تكون مانحة للالكترونات في أنواع معينة من العمليات التنفسية وكمثال تأكسد الايثانول إلى حامض الخليك الذي يعد مهماً في التكنولوجيا.

3-1-2-1 أكسدة البيروفات في الأيض الهوائي إلى Acetyl CoA

تعد البيروفات جزيئة مركزية في العمليات الأيضية الهوائية ويكون مصيرها الرئيس في التنفس الخلوي الأكسدة إلى Acetyl CoA و CO_2 ؛



يتم الفاعل بوجود المعقد متعدد الأنزيمات Pyruvate dehydrogenase complex (ص 321) ويتألف من ثلاث دُون وحدات Subunit فعالة لكل منها فعالية أنزيمية متميزة وهي Pyruvate dehydrogenase و Dihydrolipoyl transacetylase و Dihydrolipoyl dehydrogenase يوضح الجدول (3-5) الفعاليات الأنزيمية للمعقد في البكتريا E. coli

يشتمل التفاعل الإجمالي (3-88) على عدة خطوات تتطلب تناسقاً دقيقاً بين دُون وحدات المعقد ويوضح الشكل 3-23 خطوات التفاعل بالتفصيل.

جدول (3-5): المعقد الأنزيمي pyruvate dehydrogenase للبكتريا E.coli

Enzyme	Abbreviation	Number of chains	Prosthetic group	Reaction catalyzed
pyruvate dehydrogenase Component	A or E ₁	24	TPP	Decarboxylation of pyruvate
Dihydrolipoyl Transacetylase	B or E ₂	12	Lipoamide	Oxidation of C2 Unit and transfer to CoA
Dihydrolipoyl dehydrogenase	C or E ₃	12	FAD	Regeneration of the Oxidized form of lipoamide

أ. يتم إزالة الكربوكسيل من البيروفات بفعالية دون الوحدة pyruvate dehydrogenase المتطلب للتميم الأنزيمي Thiamine pyrophosphate (Thiamine) وينتج عن التفاعل α -Hydroxyethyl- thiamine-pp

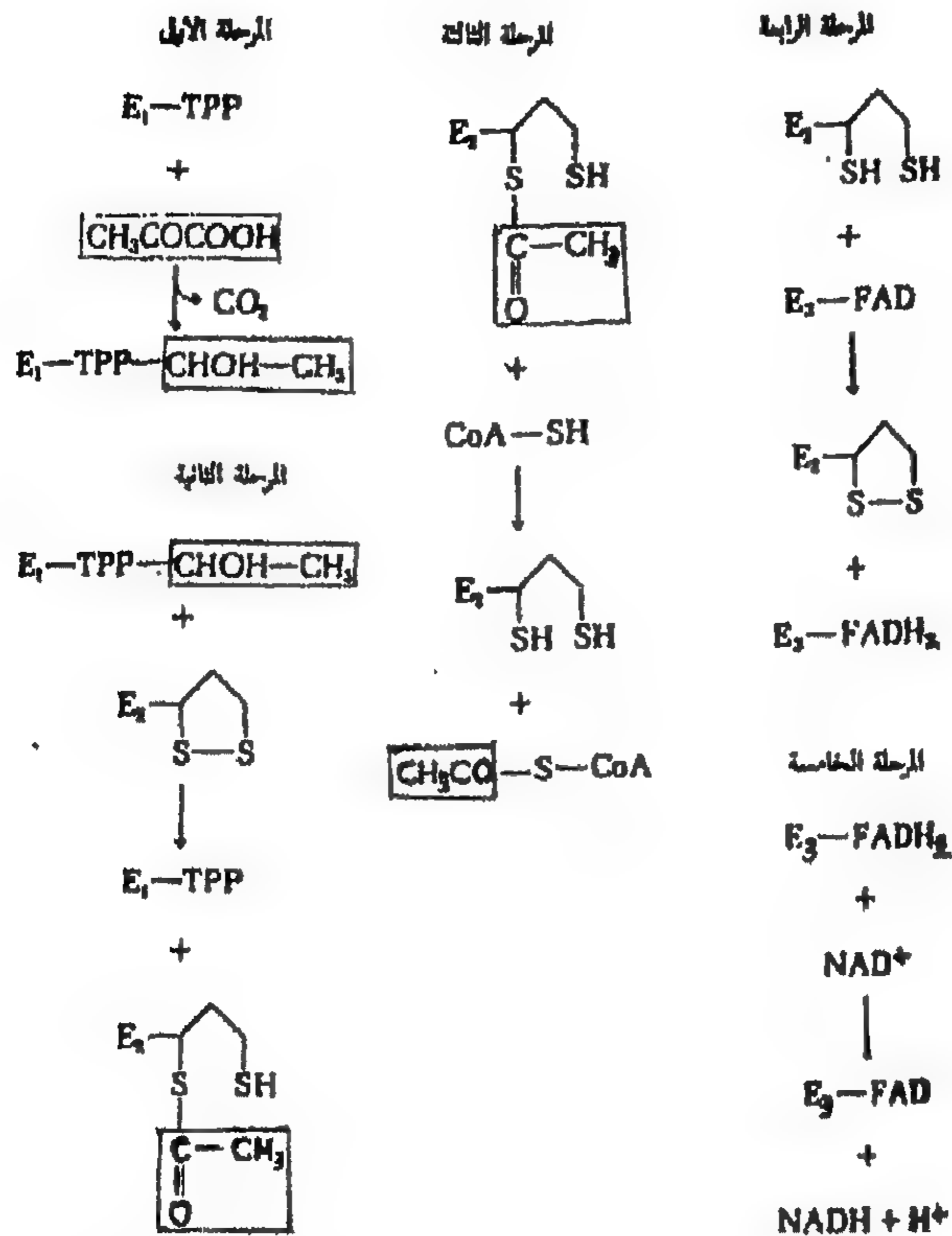
ب. تقوم دون الوحدة Pyruvate dehydrogenase

كذلك بنقل ذرات الهيدروجين ومجموعة الاستيل من Thiamine-pp إلى الصيغة المؤكسدة للمجموعة الضميمة لدون الوحدة.

Dihydrolipoyl transacetylase ويتكون نتيجة لذلك استيل ثايو- استر Acetyl thino ester للمجموعة الضميمة المختزلة لدون الوحدة المذكورة (انظر الشكل 3-23).

ج. تتفاعل جزيئة CoA - SH مع مشتق الاستيل لدون الوحدة dihydrolipoyl transacetylase ويتكون بذلك Acetyl-S-CoA وتصبح المجموعة الضميمة لدون الوحدة المذكورة بصورة مختزلة.

د- تقوم دون الوحدة Dihydrolipoyl dehydrogenase بنقل ذرات الهيدروجين من المجموعة الضميمة المختزلة إلى FAD الذي يمثل المجموعة الضميمة لدون الوحدة Dihydrolipoyl dehydrogenase.



E_1 = pyruvate dehydrogenase; TPP = thiamine pyrophosphate.
 E_2 = dihydrolipoyl transacetylase;
 E_3 = dihydrolipoyl dehydrogenase.

حامض البويك lipoic acid المؤكسد

حامض البويك المختزل

شكل (3-23) خطوات التفاعل الاجمالي المحفز بالمعقد الانزيمي

Pyruvate dehydrogenase complex.

هـ- يتم أكسدة $FAD H_2$ الناتج في الخطوة السابعة بوجود NAD^+ ودون الوحدة $Dihydrolipoyl dehydrogenase$. لاحظ انتقال ذرات الهيدروجين من $FADH_2$ إلى NAD^+ عكس ما هو معروف عادة.

3-1-2-2 أكسدة المركب Acetyl CoA في دورة حامض الستريك (دورة كريبس):

تدخل جزيئة المركب Acetyl CoA والناتجة عن فعالية المعقد الأنزيمي $dehydrogenase pyruvate$ على البيروفات- دورة حامض الستريك بارتباطها مع الاوكزالواستات ويمكن كتابة المعادلة الإجمالية للدورة كالآتي:



تحصل تفاعلات دورة كريبس في الظروف الهوائية فقط حيث يعاد أكسدة التميمات الإنزيمية المختزلة- والمتكونة خلال الدورة- بدخولها السلسلة التنفسية التي يكون الأوكسجين فيها المتقبل النهائي للالكترونات وينتج عن هذه العملية تثبيت الطاقة بشكل ATP بعملية الفسفرة التأكسدية.

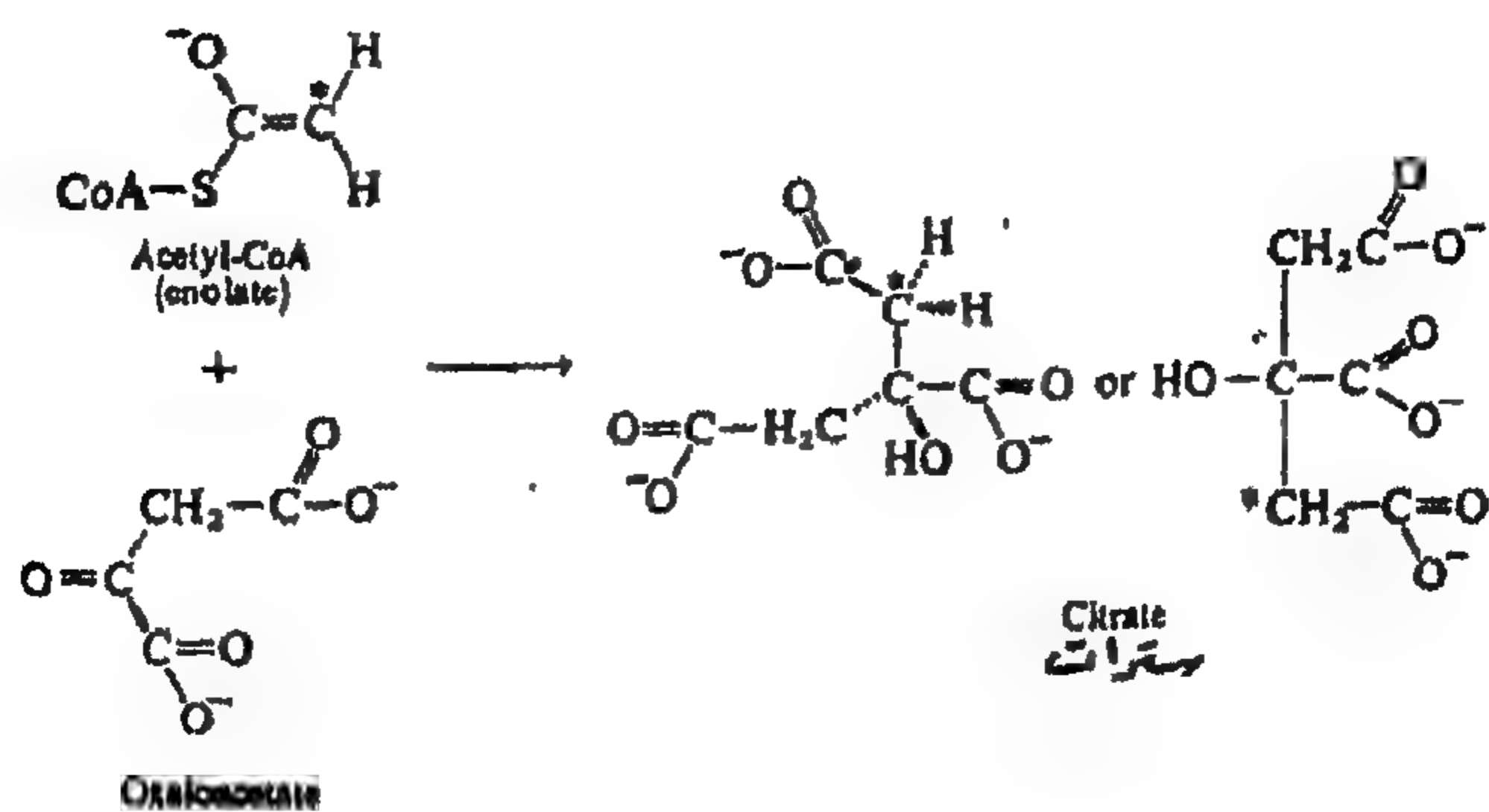
يوضح الشكل (3-24) دورة كريبس (دورة حامض الستريك) وفيما يلي تفاصيل تفاعلات هذه الدورة والأنزيمات المحفزة لها.

الخطوة الأولى: يتكاثف المركب Acetyl CoA

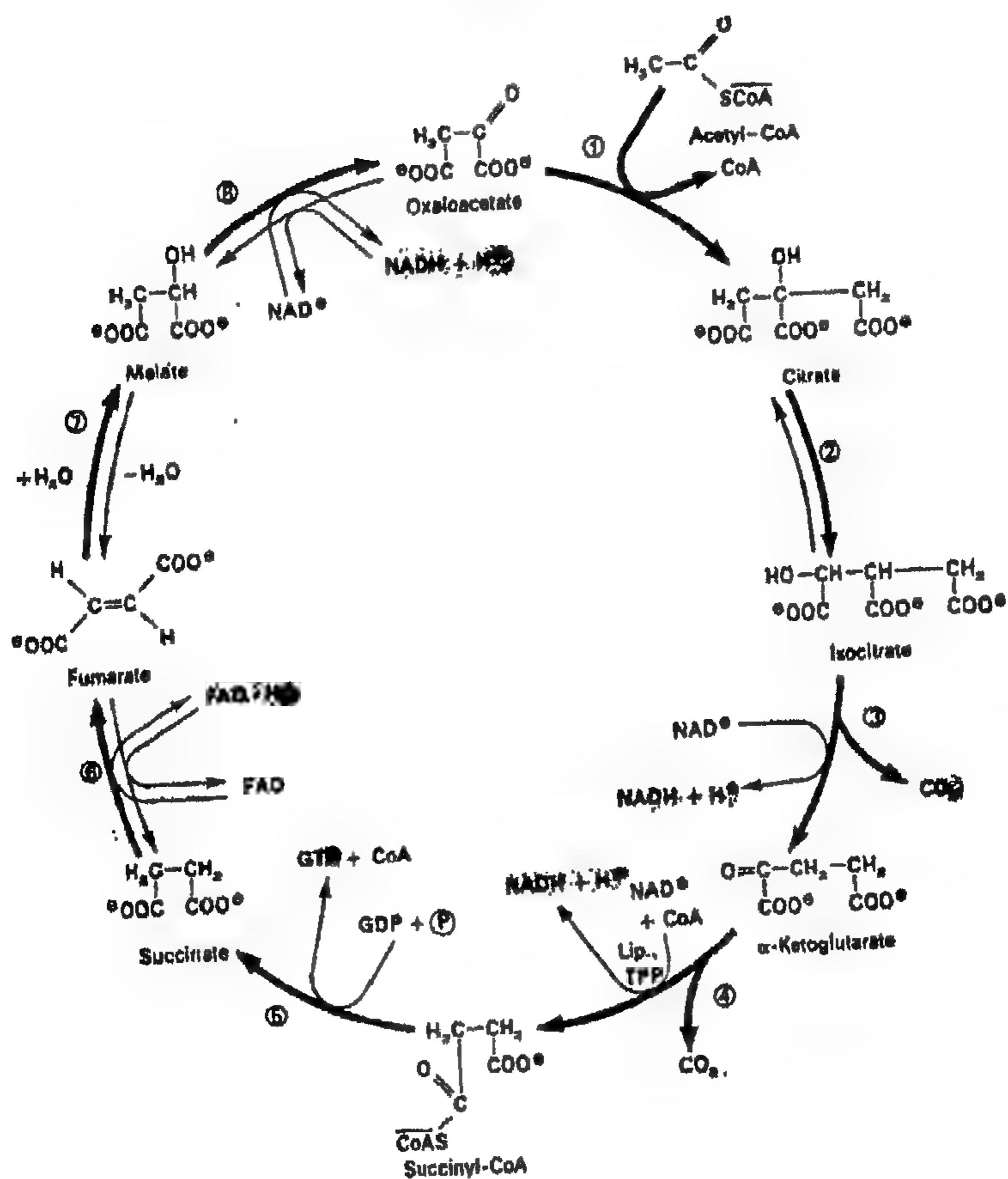
مع الأوكزالواستات بوجود الأنزيم

Citrate synthase (Citrate- Oxaloacetate lyase EC 4.1.3.7) تتفاعل

المجموعة الكيتونية للأوكزالواستات مع المركب Acetyl CoA بتفاعل شبيه بتكثيف الالدول $condensation Aldol$.



(90-3) ...

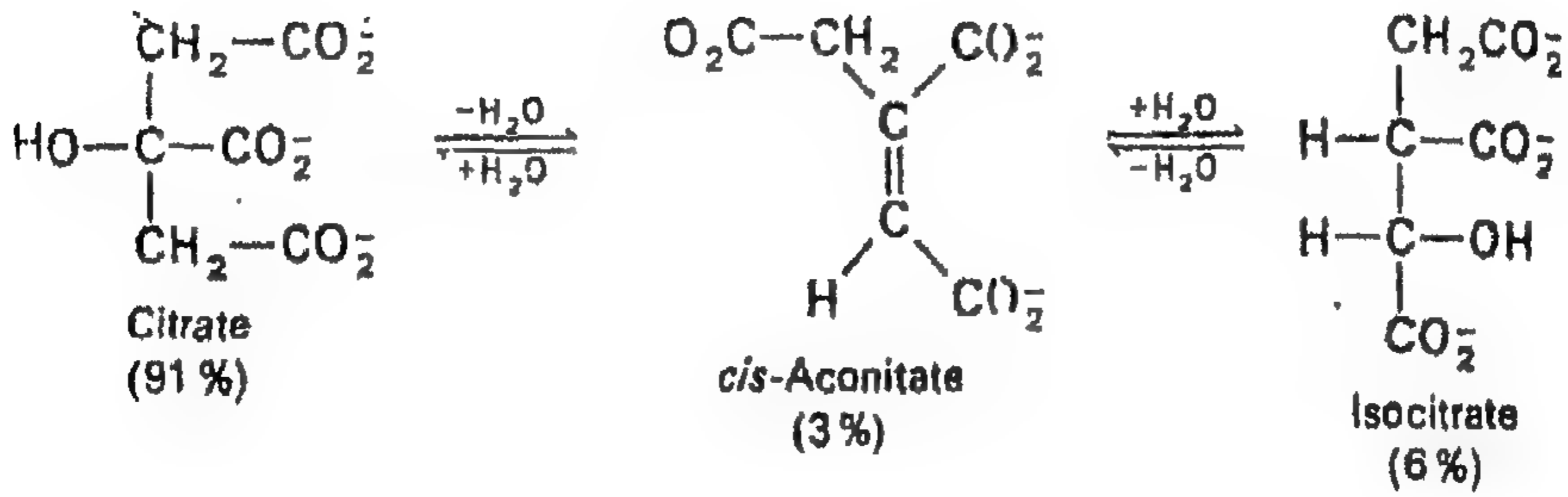


شكل (24-3) دورة حامض الستريك (دورة كريبس).

لا يبدي الأنزيم تخصصاً مطلقاً للمركب Acetyl CoA فمثلاً يمكن أن

يتفاعل المركب $\text{FH}_2\text{C}-\text{C}(=\text{O})-\text{SCoA}$ مع الأوكزالواستات لتكوين Fluorocitrate.

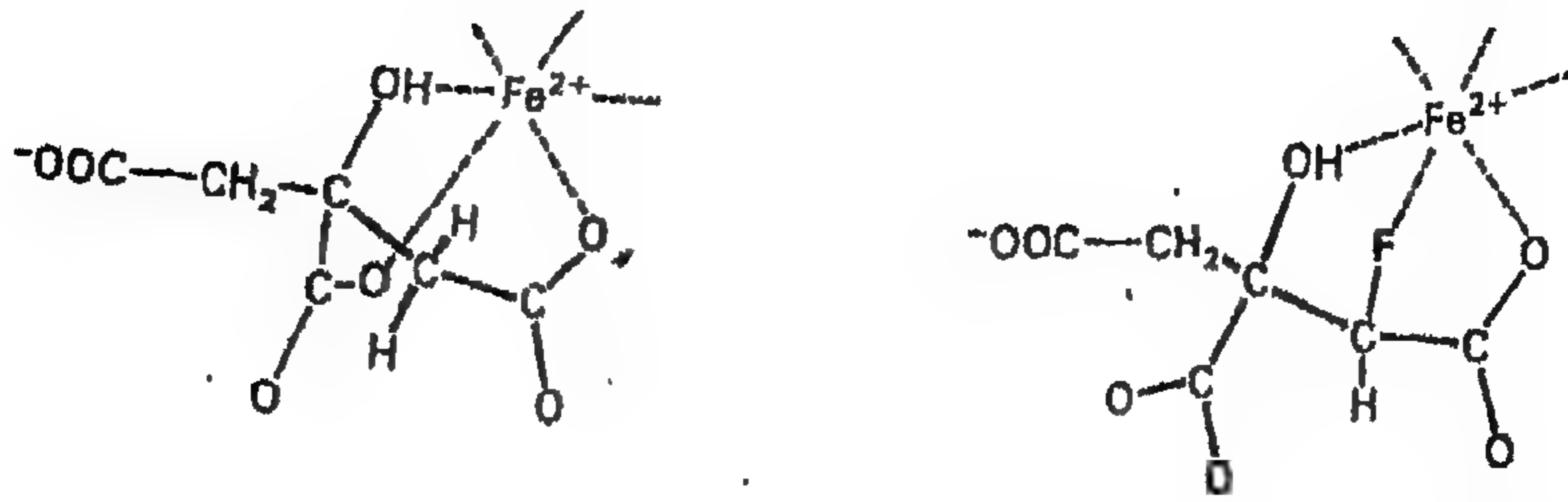
الخطوة الثانية: تتم هذه الخطوة بمساعدة الأنزيم - Citrate (isocitrate) EC 4.2.1.3 hydro Aconitate hydratase ويشتمل التفاعل تحول السترات إلى ايزوسترات عبر المركب Cis-Aconitate



يحتوي مزيج التفاعل عند الموازنة في $\text{pH} = 7.4$. النسب الموضحة في المعادلة أعلاه وهكذا يلاحظ بأن نسبة ايزوسترات قليلة مقارنة بالسترات إلا أن التفاعل يتجه في الخلية نحو إنتاج ايزوسترات بالنظر لأن المركب الأخير يستهلك بسرعة في التفاعلات اللاحقة.

يكون الأنزيم Aconitase ذا تخصص مطلق إذا ما قورن بالأنزيم Citrate synthase وهكذا لا يستطيع أن يعمل على المركب Fluorocitrate وبالحقيقة يكون هذا المركب مثبطاً للأنزيم ويمكن تفسير هذا كما يأتي:

يحتوي الموقع النشط للأنزيم Aconitase على أيون Fe^{2+} الذي يكون خلاصة chelate مع أوكسجين مجموعة الهيدروكسيل وأوكسجين مجموعتي الكاربوكسيل للسترات (شكل 3-25) وتسمى آلية عمل الأنزيم بآلية عجلة الحديدوز mechanism Ferrous wheel.

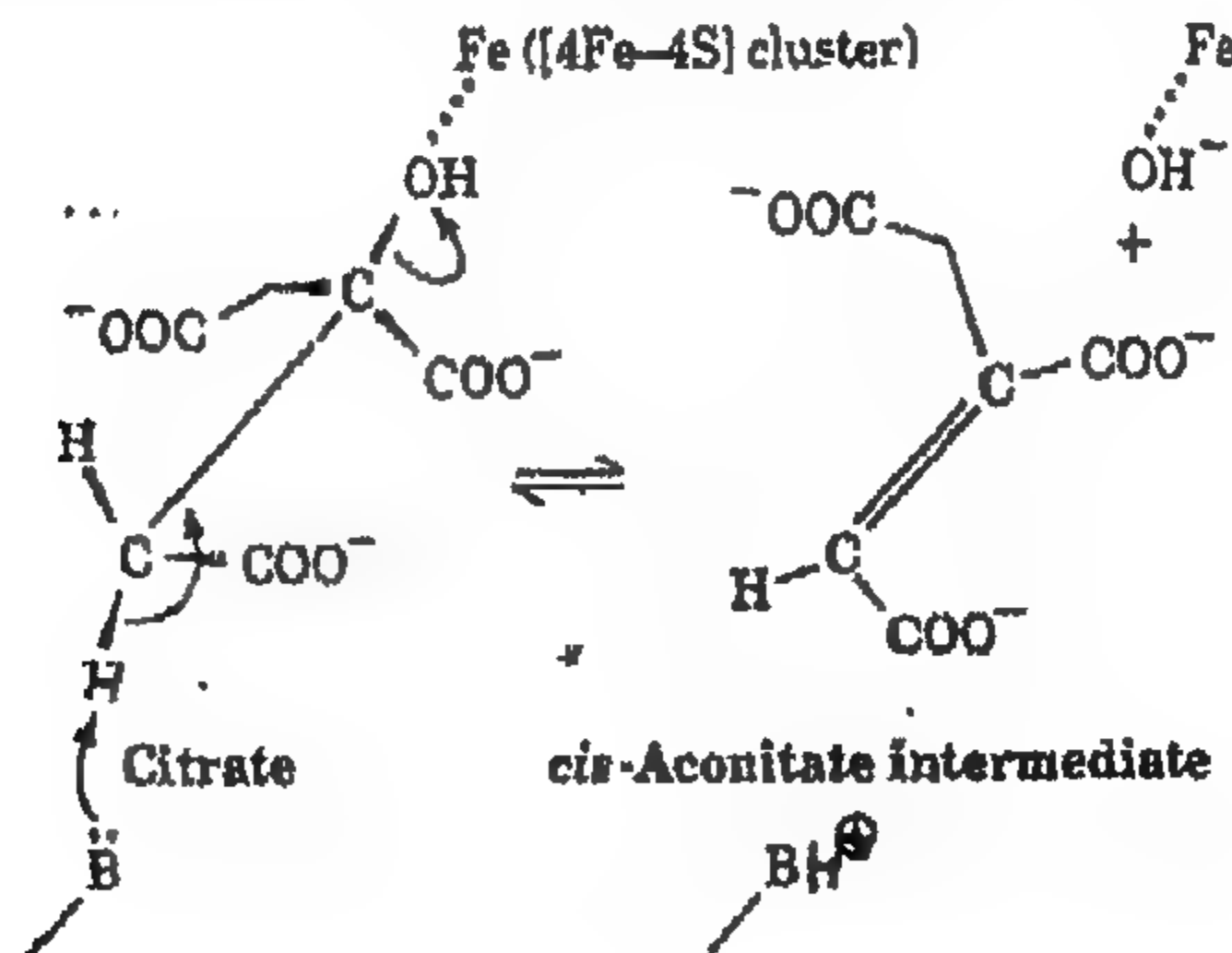


شكل (3- 25) النموذج المقترح لارتباط السترات والفلوروسترات في الموقع النشط للإنزيم

Aconitase

وعلى العكس يرتبط الفلوروسترات بحيث تكون ذرة الفلور خلاصة مع أيون الحديدوز أن الكهروسلبية Electronegativity العالية للفلور تجعله يرتبط بقوة مع Fe^{2+} وهذا يؤدي إلى أنزيم مثبت.

يساعد أنزيم Aconitase التفاعل العكسي المزامر للسترات والايسترات، ويكون المركب cis-aconitate مركباً وسطياً في هذا التفاعل يلزم لتكوين المركب الوسطي cis-aconitate إزالة جزيئة من الماء (dehydration) وذلك بمساعدة الجزء القاعدي للأنزيم (B) حيث يسلب الأنزيم بواسطة هذا الجزء بروتوناً من الكربون رقم (2) للسترات، ويتبع ذلك فقدان مجموعة هيدروكسيل (OH) من الكربون رقم (3). هذا علماً بأن الأنزيم السالف الذكر يحتوي في تركيبه على مجاميع من ($Fe-4S_4$) والتي يحتاجها الأنزيم لنشاطه التحفيزي (شكل 3-26).

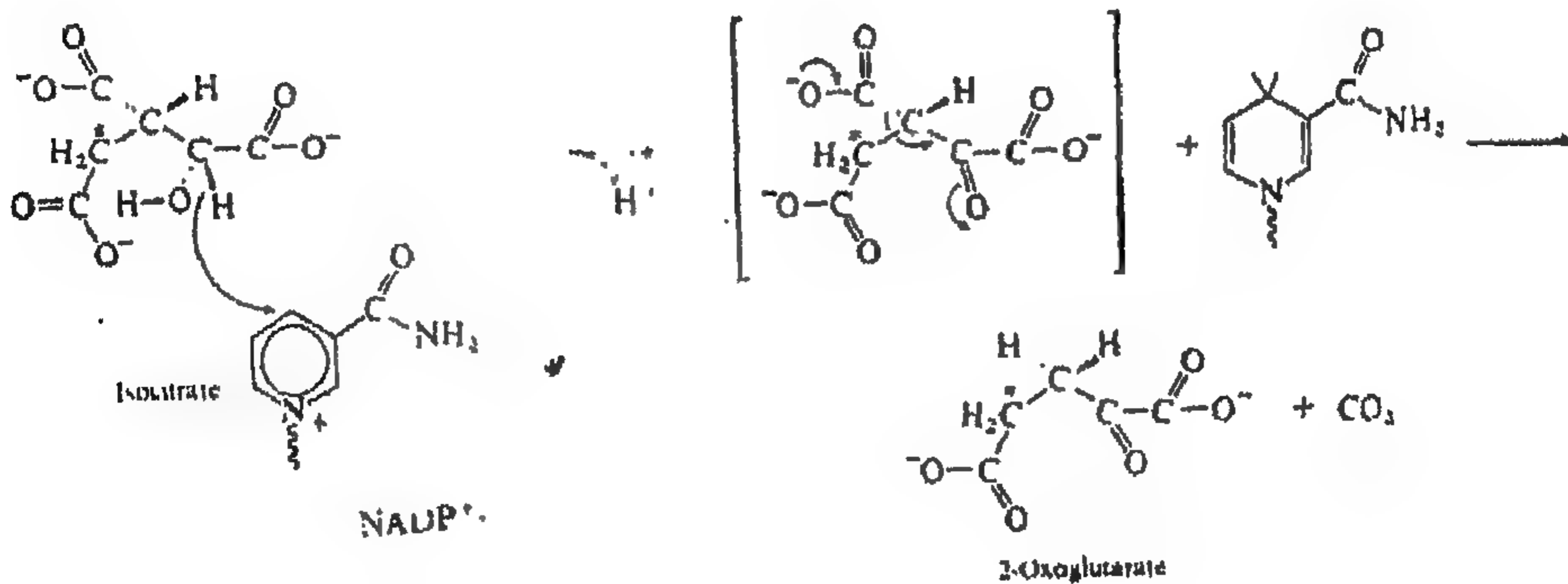


شكل 3-26

الخطوة الثالثة: تحول الايزوسترات إلى الفا- كيتوكلوترات
 α -Ketoglutarate و تتم بمساعدة الأنزيم Isocitrate dehydrogenase threo-DS-
 Isocitrate: NAD oxidoreductase(decarboxylating)

يوجد لهذا الأنزيم ايزوانزيمان أحدهما ذو خصوصية للمركب NAD والآخر متخصص للمركب NADP ويعد الأول أكثر أهمية في إنتاج الطاقة من الثاني حيث تنقل ذرات الهيدروجين من NADH عبر السلسلة التنفسية ويتم نتيجة لذلك تكوين ATP. يثبط عمل هذا الأنزيم (المتخصص للمركب NAD). بوجود تركيزات عالية نسبياً من ATP وينشط بوجود ADP. أما الأيزوانزيم المتخصص للمركب NADP فذو فائدة في عمليات التخليق الحيوي حيث يستخدم التميم الأنزيمي المختزل NADPH مصدراً لمكافئات الاختزال في هذه العمليات. يحتاج كلا الأنزيمين إلى وجود Mg^{+2} أو Mn^{+2} بوصفها منشطات.

تتم عملية تحول الايزوسترات إلى الفا- كيتوكلوترات على مرحلتين: ففي المرحلة الأولى تتم إزالة ذرتي هيدروجين وتتحول الايزوسترات إلى اوكزالوسكسنات، وفي المرحلة الثانية تتم إزالة الكربوكسيل من السكسنات لتكوين الفا- كيتوكلوترات وتسهل إزالة الكربوكسيل لوجود مجموعة كيتو مجاورة.



(91-3) ...

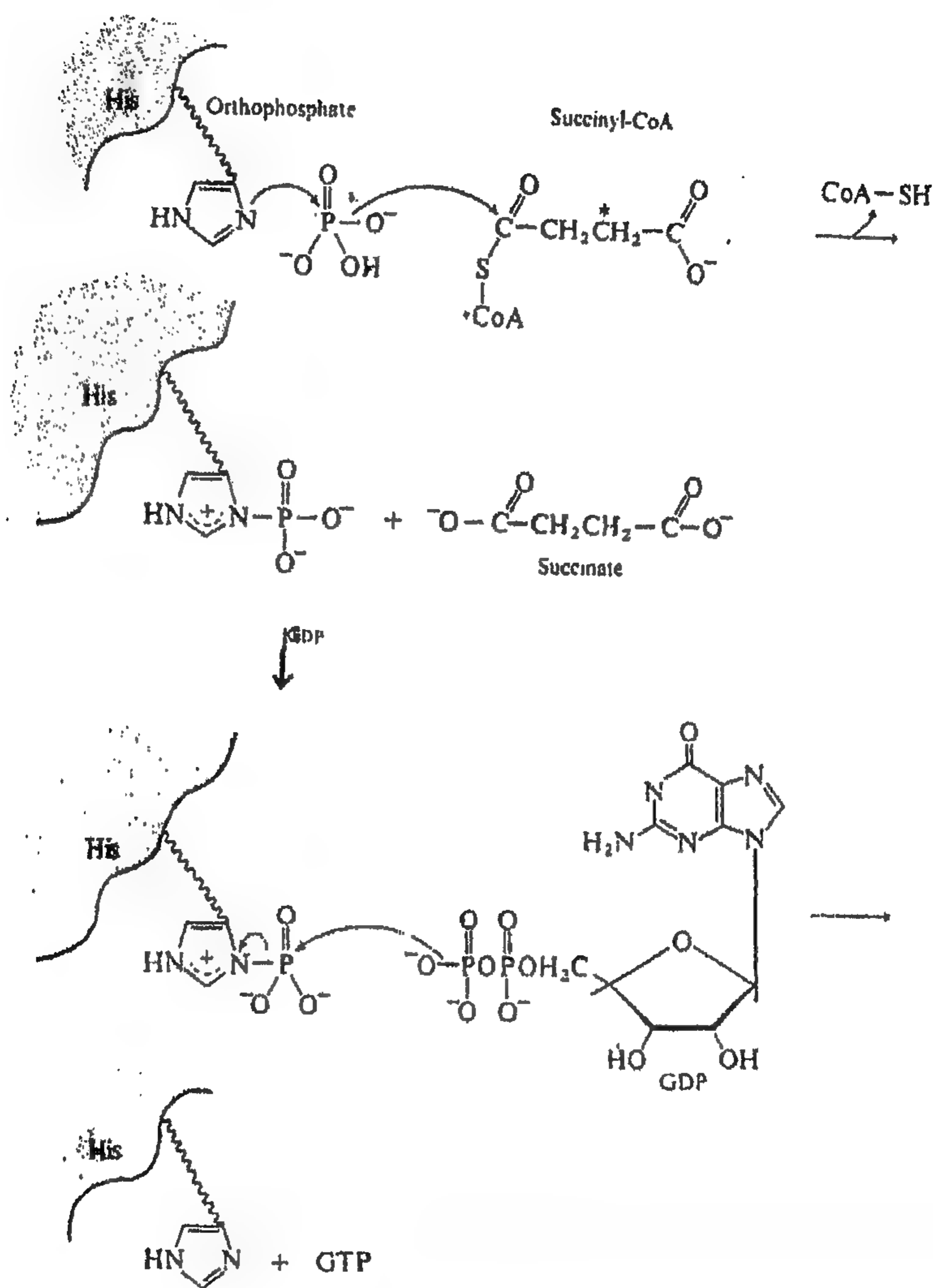
يلعب مثبط الأنزيم Isocitrate dehydrogenase وكذلك Aconitase دورا كبيرا في إنتاج حامض الستريك في الصناعة عن طريق أنواع من الفطر مثل *Aspergillus niger*

يعد المركب Hexacyanoferrate (II). لذا فإن لهذين المثبطين دورا كبيرا في تكنولوجيا اختمار حامض الستريك.

الخطوة الرابعة: إزالة الكربوكسيل التأكسدية من المركب -الفا- كيتو كلوترات وتحويله إلى Succinyl CoA. تطابق آلية هذا التفاعل وكذلك تميماته الأنزيمية، آلية تحول حامض البيروفك إلى Acetyl CoA. يحدث التفاعل بواسطة المعقد متعدد الأنزيمات الذي يتكون من ثلاث وحدات فعالية ذات فعاليات أنزيمية مختلفة وهي α -Ketoglutarate و dehydrogenase و Dihydrolipoyl transacetylase و Dihydrolipoyl dehydrogenase

الخطوة الخامسة: يتم في هذه الخطوة (فسفرة على مستوى الركيزة) حيث يتم تخليق جزيئة GTP في الوقت الذي يتحول فيه Succinyl CoA إلى Succinate. يشتمل هذا التفاعل - المحفز بالأنزيم Succinyl CoA على خطوة وسطية يكون فيها الأنزيم بصيغة مفسفرة Phosphoryl enzyme يمكن عزلها. ترتبط مجموعة الفسففات بنتروجين جزء الاميدازول لوحده الهستديل في الموقع النشط لدون الوحدة الصغيرة. ولقد امكن معرفة حقيقة هذا الارتباط على أساس الظروف التي تحصل فيها إزالة الفسفرة. تعاني وحدات الهستديل المفسفرة إزالة مجموعة الفسففات منها بوجود اعيارى حامض الكبريتيك في 100°م مدة دقيقتين أما فسففات الاسيل Acyl phosphate وكمثال وحدة الكلوتاميل المفسفرة، فتعاني من إزالة مجموعة الفسففات منها عند تعريضها إلى 0.03 مولار هيدروكسيد الصوديوم مدة 10 دقائق. ومن ناحية أخرى يمكن إزالة فسفرة الوحدات: Phosphorylseryl أو phosphorylthreonyl عند معاملتها مدة 15 دقيقة في 100°م مع أعيارى هيدروكسيد البوتاسيوم.

لقد تبين كذلك بأنه نتيجة للتفاعل، يتم نقل ذرة أوكسجين من الفسففات إلى السككنسات، وبناء على هذه المعلومات وغيرها، تم اقتراح آلية التفاعل الموضحة في شكل (27-3).



شكل (27-3) آلية تحول Succinyl CoA إلى Succinate بوجود الانزيم Succinyl CoA Synthetase. لاحظ تكوين انزيم مفسفر في جزء الأميدازول لثمالة الهستديل في الموقع النشط للانزيم ويتم بعدئذ نقل مجموعة الفسففات هذه إلى GDP لتكوين GTP.

يمكن لل GTP الناتج في الخطوة الخامسة أن يتحول إلى ATP:

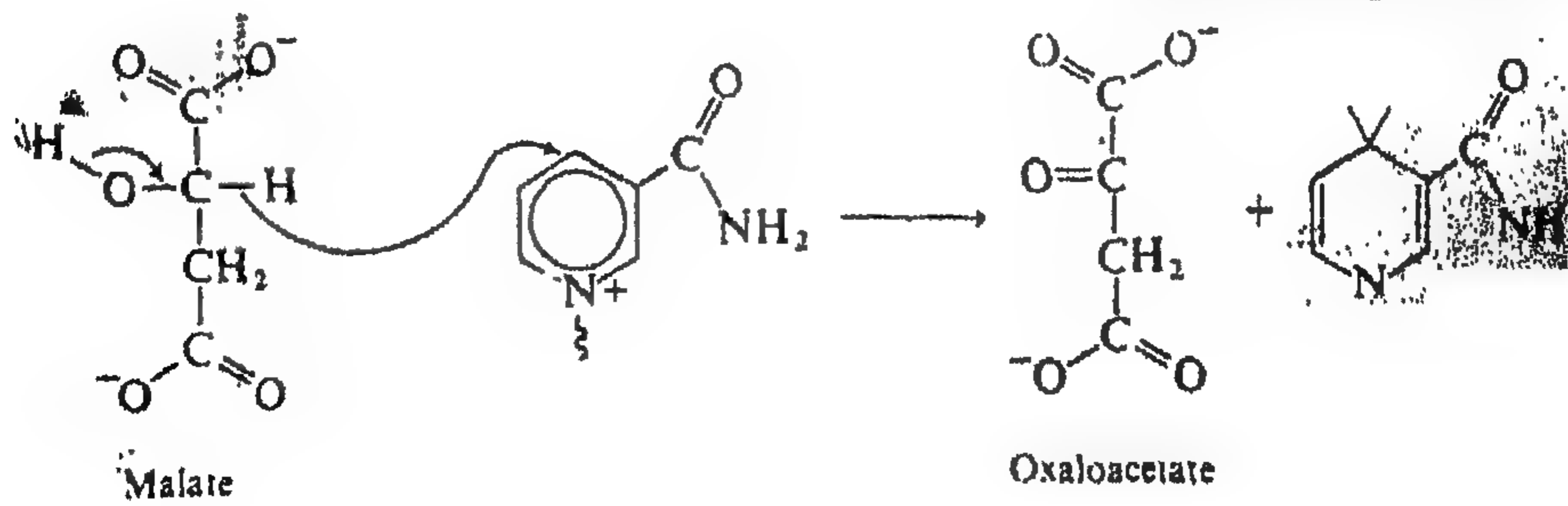


بوجود الأنزيم Nucleoside diphosphokinase.

الخطوة السادسة: تزال ذرتا هيدروجين من السككنسات وتتحول بذلك إلى فيومارات بواسطة الأنزيم Succinate (acceptor)- {Succinate- dehydrogenase Oxidoreductase} ويعمل المركب FAD المرتبط بالأنزيم بمثابة المجموعة الضميمة حيث تتصل الحلقة Isoaloxazine بصميم الأنزيم Apoprotein بأصرة تساهمية يحتوي الأنزيم كذلك على أربع ذرات Fe لكل مجموعة فلافين. ويمكن تثبيط هذا الأنزيم تنافسيا عن طريق حامض المالمونك (HOCO -CH₂ - COOH).

الخطوة السابعة: تتحول الفيومارات إلى مالات بواسطة الأنزيم -Malate- [Hydro-lasy Fumarate hydratase] L ويتضح من التسمية إضافة مكونات الماء إلى الفيومارات. للأنزيم تخصص مطلق لكل من حامض الفيوماريك وعند التوازن في PH=0.7 يحتوي مزيج التفاعل 82% حامض المالك.

الخطوة الثامنة: يمثل تحول المالات إلى الأوكزالواستات التفاعل الأخير في دورة كريبس. تتم العملية بالأنزيم Malate -L-Malate:NAD oxidoreduc dehydrogenase tase:



... (3-93)

تعيد الدورة نفسها من جديد بتفاعل الاوكزالواستات مع جزيئة أخرى
 Acetyl CoA ليعاد أكسدتها وتحولها إلى جزيئتين CO_2 مع توليد جزيئة GTP
 وثلاث جزيئات NADH وجزيئة FADH_2 .

تدخل هذه التميمات الأنزيمية المختزلة السلسلة التنفسية وينتج عن أكسدة
 كل جزيئة NADH ثلاث جزيئات ATP بينما تؤدي أكسدة FADH_2 إلى توليد
 جزيئتي ATP. وبذلك يؤدي أكسدة Acetyl CoA في دورة تامة إلى توليد 12
 جزيئة عالية الطاقة وهي 11 جزيئة ATP وجزيئة GTP.

3-2-1-3 السلسلة التنفسية والفسفرة التأكسدية؛

يوضح الشكل 3-28 مراحل التنفس الخلوي. يتم في المرحلة الأولى تحول
 البيروفات والأحماض الأمينية والدهنية إلى Acetyl CoA وفي المرحلة الثانية يتم
 أكسدة المركب Acetyl CoA في دورة حامض الستريك إلى CO_2 مع توليد ذرات
 هيدروجين غنية بالطاقة (بشكل NADH و FADH_2). وفي المرحلة الثالثة للتنفس
 الخلوي تنفصل ذرات الهيدروجين إلى بروتونات والكترونات غنية بالطاقة، تنقل
 عبر سلسلة من الجزيئات الناقلة للإلكترونات (السلسلة التنفسية وتسمى أيضاً
 سلسلة نقل الألكترولونات) إلى الأوكسجين الجزيئي وتختزله ويؤدي ذلك إلى
 توليد الماء. خلال عملية نقل الإلكترونات هذه، تتحرر كمية كبيرة من الطاقة
 يتم حفظ جزء كبير منها بصيغة ATP وبعملية تسمى الفسفرة التأكسدية.

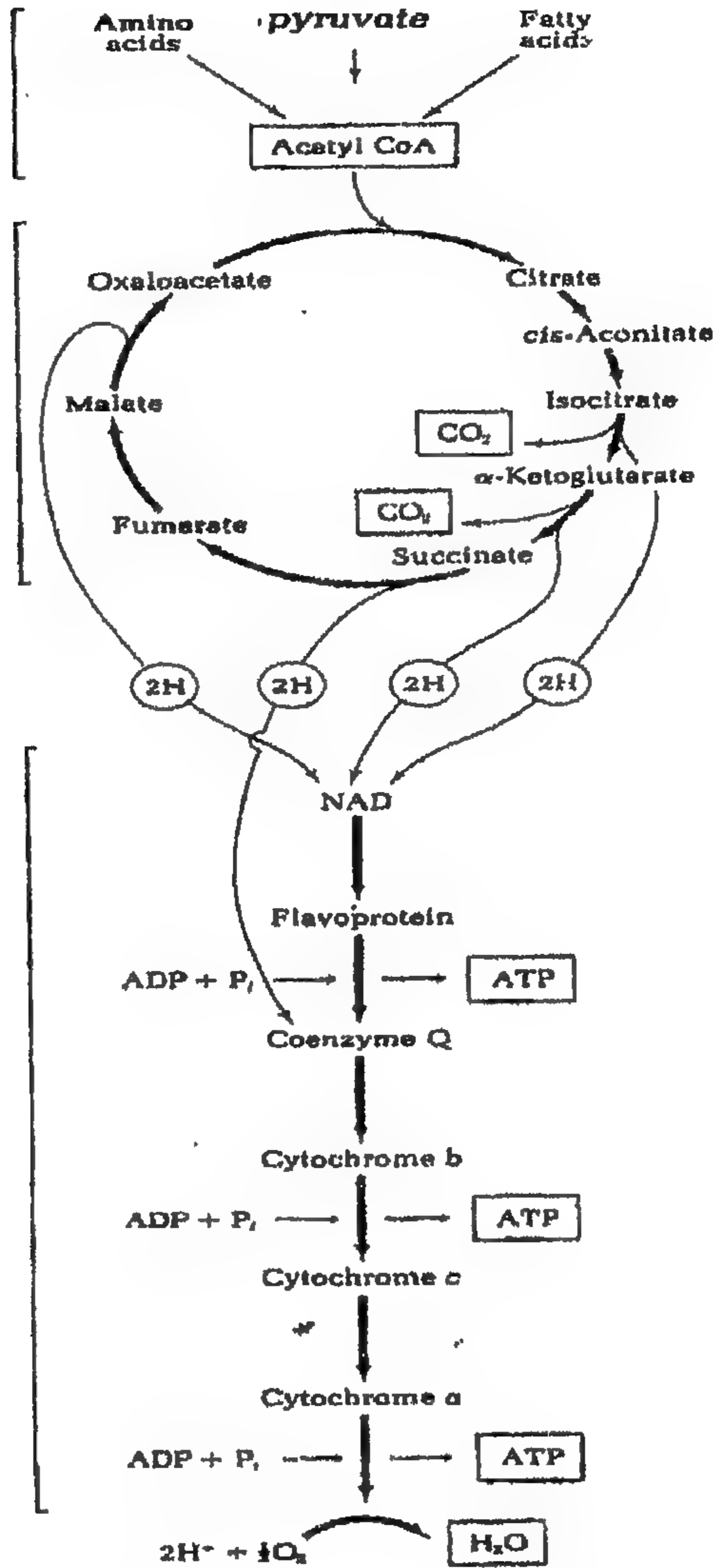
يمكن توضيح السلسلة التنفسية في جزيئين: يتم في الجزء الأول منها
 مراحل نقل الهيدروجين وحيث تنقل أزواج من الإلكترونات والبروتونات متزامنة،
 وأما في الجزء الثاني فيتم نقل الإلكترونات فقط.

إزالة الهيدروجين من المركب NADH بواسطة الأنزيم NADH dehydrogenase؛

يشكل NADH ركيزة للمعقد الأنزيمي NADH dehydrogenase وفي
 هذا التفاعل يتم نقل زوج من مكافئات الاختزال من NADH إلى المجموعة
 الضميمة [FMN (Flavin mononucleotide)]؛



(94 -3)



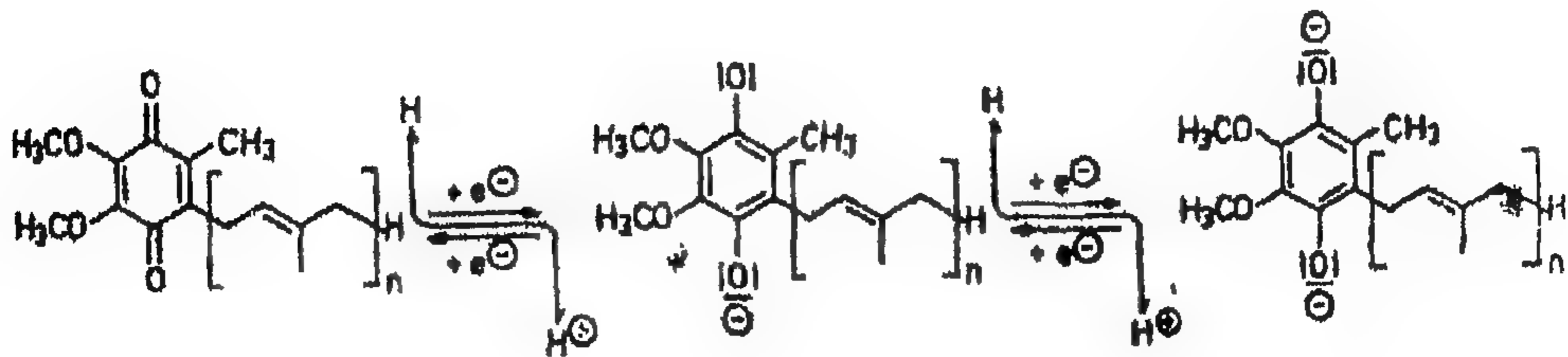
شكل (28-3) مراحل التنفس الخلوي. المرحلة الأولى: تكوين Acetyl CoA المرحلة الثانية: دورة حامض الستريك، المرحلة الثالثة: انتقال الإلكترونات في السلسلة التنفسية والفسفرة التأكسدية: يعطي كل زوج لذات الهيدروجين الذي يدخل السلسلة بشكل NADH، 3 جزيئات ATP.

إضافة إلى المجموعة FMN، يحتوي الأنزيم NADH dehydrogenase على عدة ذرات حديد لاهيمي Nonheme iron تعاني تحولا رجوعيا بين Fe (II) و Fe(III) وبذلك يكون بالإمكان نقل مكافئات الاختزال من المجموعة الضميمة FMNH₂ إلى الجزيئة اللاحقة الناقلة للإلكترونات في السلسلة وهي اليريكوينون. يسمى المعقد المتكون من فعالية NADH dehydrogenase ومراكز الحديد-الكبريت (الحاوية على الحديد اللاهيمي) باسم NADH- ubiquinone reductase.

يتم تحرير كمية كبيرة من الطاقة الحرة نتيجة إزالة الهيدروجين بواسطة NADH Dehydrogenase وتخزن الخلية جزءا من هذه الطاقة بازواج التفاعل المطلق للطاقة Exergonic reaction مع فسفرة المركب ADP.

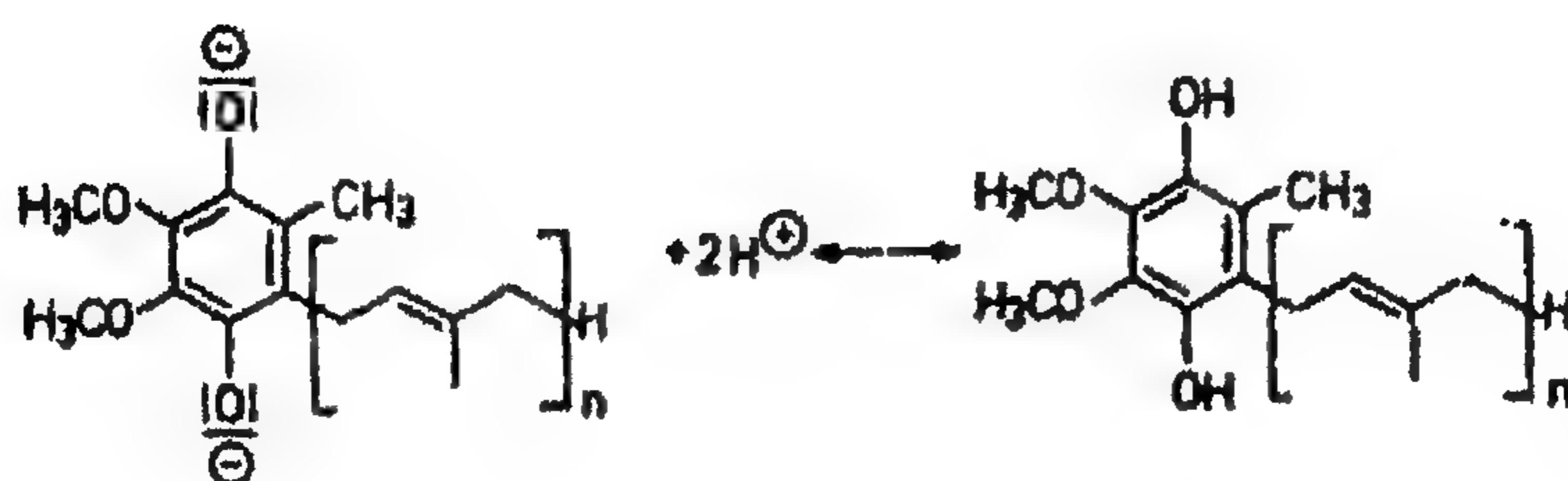
اليوبكوينون (التميم الأنزيمي Q) مستقبلا لمكافئات الاختزال من التميمات الأنزيمية القلافينية المختزلة.

عندما يهب الأنزيم NADH dehydrogenase (E-FMNH₂) مكافئات الاختزال من خلال مراكز الحديد-كبريت إلى اليوبكوينون، يختزل الأخير إلى ubiquinol أي (QH₂) يمكن التعبير عن نقل ذرات الهيدروجين إلى اليوبكوينون كنقل إلكترونين كالآتي:



... (3-95)

يتكون في المرحلة الوسيطة المركب Semiquinone الذي يتحول فيما بعد إلى ubihydroquinone. يمكن تحول المركب ubihydroquinone ذي الشحنة السالبة إلى الشكل غير المتأين نتيجة لإكتسابه بروتونات:



... (96-3)

يستلم اليوبيكوينون مكافئات الإختزال كذلك من مزيلات الهيدروجين Dehydrogenases الأخرى المرتبطة الفلافين وكمثال Succinate dehydrogenase و Fatty acy CoA dehydrogenase

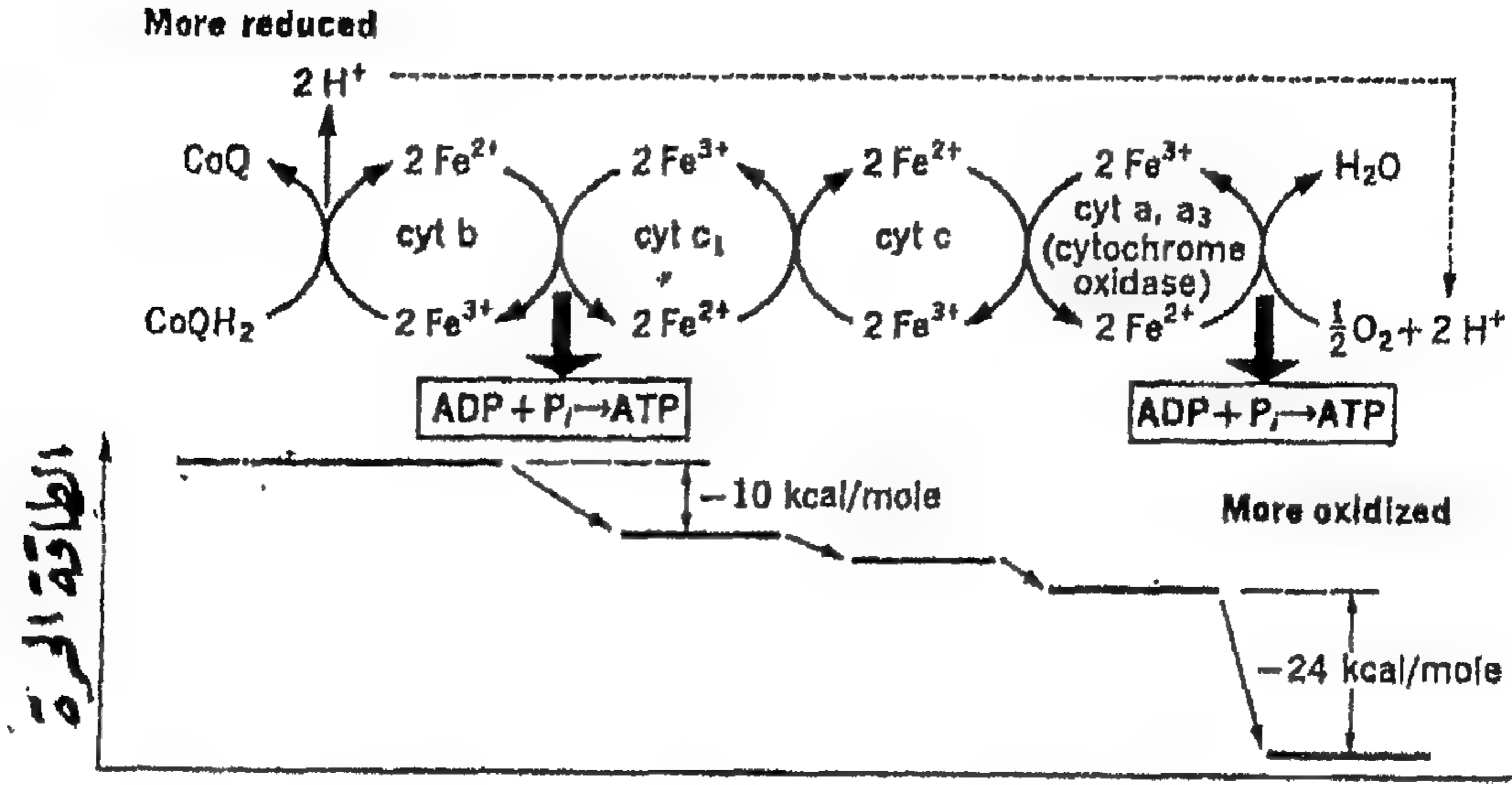
ترتبط بكاربون رقم 6 حلقة الكوينون في اليوبيكوينون سلسلة أيزوبرينويدية وهي بوليمر مكون من وحدات الايزوبروبين (2-مethyl-2 - بيوتين). ويتراوح عدد الوحدات من 6-10 تبعاً لوجودها في الخمائر أو الأحياء المجهرية أو الفطريات فهي 7-10 في الطحالب و 9-10 في الفطريات Fungi و 6-9 في الخمائر و 9 في الكرثديا والتريبانوسوما ولقد وجدت مؤخرة رسام M.B.Rassam وجماعتها (1988) بأن طفيليات الشمانيا المسببة لمرض الحمى السوداء في العراق تحتوي على يوبيكوينون من نوع Uqq أي أن السلسلة الجانبية تحوى 9 وحدات ايزوبرين.

نظام الساييتوكرومات لنقل الإلكترونات:

تنتقل الإلكترونات من اليوبيكوينون المختزل إلى سلسلة الساييتوكرومات وهي ساييتوكروم b وساييتوكروم C₁ وساييتوكروم C وساييتوكروم a₃ و a على التوالي. الساييتوكرومات بروتينات هيمية تختلف بخواص أكسدتها الرجوعية properties Redox يتضح من الجدول (3-5) بأن محصلة التغير في جهد الإختزال القياسي تعادل 0.22 فولت عند الانتقال من سايوكروم b إلى ساييتوكروم (a₃, a) وهذا يعادل 10.1 كيلو سعرة لكل مول. وبما أن المجموعة الضميمة لجميع الساييتوكرومات ذات أساس واحد وهو النظام Fe (III)Fe (II) لمجموعة الهيم فإن الجزء البروتيني للساييتوكروم الذي يختلف من ساييتوكروم لآخر في تسلسله من الأحماض الأمينية وارتباطه أو تأثيره مع مجموعة الهيم يخلق محيطاً لمجموعة الهيم مختلفاً من ساييتوكروم لآخر بحيث تختلف معه قيم جهود الإختزال القياسية (E). يوضح الشكل (3-29) نظام الساييتوكرومات ومواقع تكوين المركب ATP (بالفسفرة التأكسدية).

جدول 3-5 الجزيئات الناقلة للإلكترونات في السلسلة التنفسية وجهود اختزالها القياسية.

Protein البروتين	Prosthetic group المجموعة الضميمة	Number of electrons transferred عدد الإلكترونات المنتقلة	(E. (V
NADH dehydrogenase	FMN	2	0.11-
Coenzyme Q (not a protein)	Quinone	2	0.10+
Cytochrome b	Heme	1	0.06+
Cytochrome C ₁	Heme	1	0.22+
Cytochrome c	Heme	1	0.25+
Cytochrome a.a ³	Heme	1	0.28+
(Oxygen)	—	4	0.28+



شكل (3-29) نظام الساييتوكرومات ومواقع تكوين المركب ATP (الفسفرة التأكسدية).

تتميز الساييتوكرومات بأطياف ذات قمم امتصاص خصوصية للساييتوكروم في المنطقة المرئية من الطيف الشمسي. وبالنظر لوجود ساييتوكروم C بصورة ذائبة دون غيره من الساييتوكرومات فلقد أمكن عزله وتشخيصه. يظهر ساييتوكروم C المختزل طيف امتصاص ذي قمة مميزة لهذا النوع من الساييتوكرومات عند 550 نانوميتر للبكتريا *Nitrosomonas europaea* و 555 نانوميتر لطفيليات الكرشديا والتريبانوسوما وجدت رسام وداود & Rassam Dawood عام 1986 بأن طفيليات الشمانيا تحوي ساييتوكروم C ذي قمة عند 555 نانوميتر وسمي Cyt C^{555} .

تجدر الإشارة إلى أن آخر ساييتوكروم في السلسلة وهو ساييتوكروم (a, a^3) أو ما يسمى أوكسداز الساييتوكروم *Cytochrome oxidase* يختلف عن بقية الساييتوكرومات احتوائه إضافة إلى مجاميع الهيم على ذرات نحاس (بنسبة 1:1

هيم: نحاس). يعاني النحاس كذلك من أكسدة رجوعية $\text{Cu (I)} - \text{Cu (II)}$ خلال انتقال الإلكترونات إلى المستقبل النهائي في السلسلة وهو الأوكسجين الجزيئي.

الفسفرة التأكسدية:

أوضحنا فيما تقدم وجود ثلاثة مواقع لحفظ الطاقة بشكل ATP خلال مرور زوج من الإلكترونات في السلسلة التنفسية (شكل 3-28)، والسبب يعود إلى أن التغير القياسي في الطاقة الحرة (AG) الناتج عن انتقال الزوج الإلكتروني في ذلك الموقع أكثر مما يكفي لتكوين جزيئة ATP (شكل 3-30). ترتبط AG بقيم AE بالعلاقة الآتية:

$$AG = nFAE$$

حيث تقدر AG بالسعرات

n = عدد الإلكترونات المنتقلة

F = ثابت فرداي ويعادل 23.62 سعرة/فولت. مول

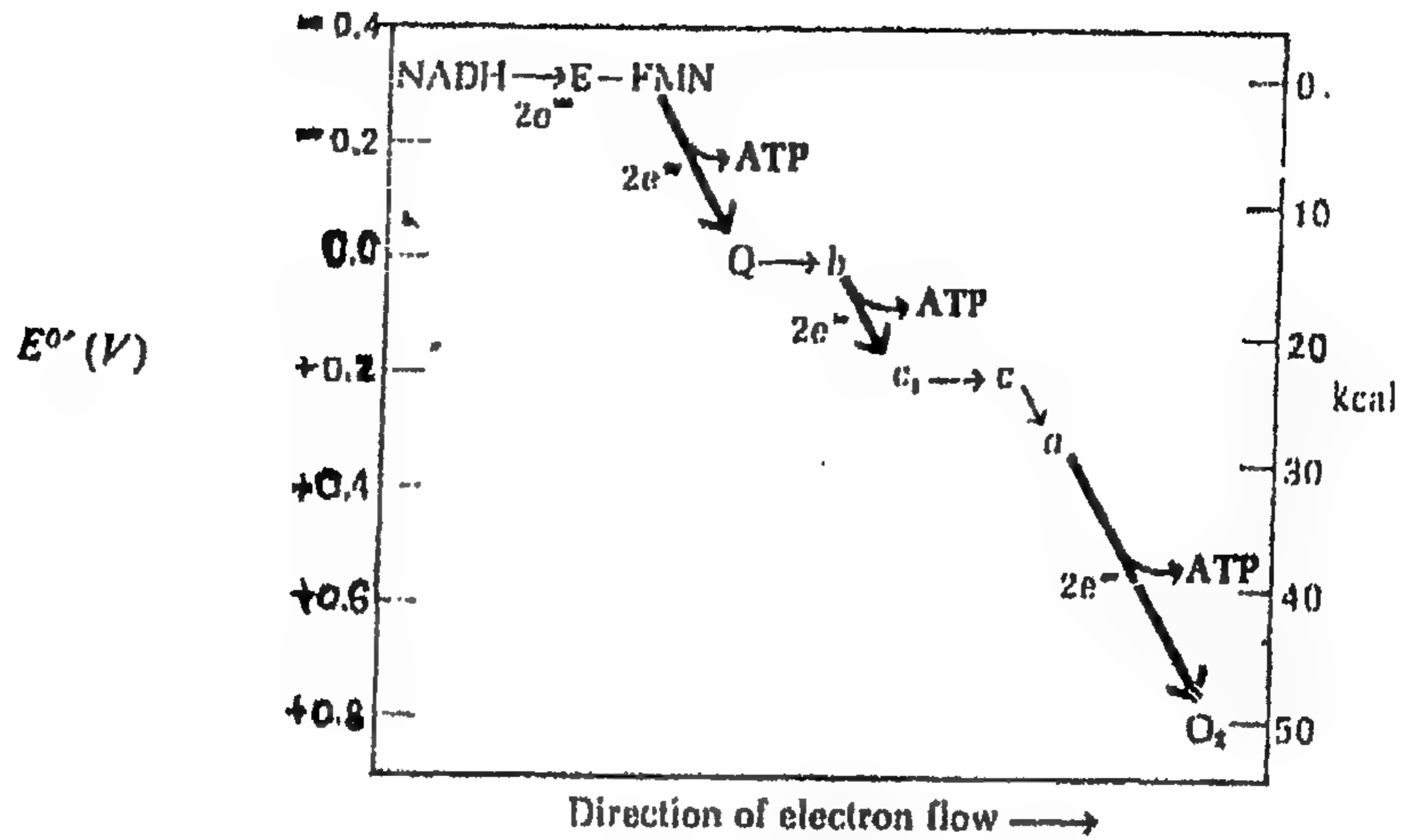
AE = الفرق بين الجهد القياسي للنظام الواهب للإلكترونات والنظام المتقبل لها.

ويقصد بالظروف القياسية تركيز 1 مولار لكل من المكونات ودرجة حرارة 25°م ورقم هيدروجيني (7).

يمكن حساب التغير القياسي في الطاقة الحرة الناتج عن انتقال زوج الكتروني من المزدوجة $\text{NADH} / \text{NAD}^+$ ($E = 0.32$ فولت) إلى المزدوجة

$\text{H}_2\text{O} / \frac{1}{2}\text{O}_2$ ($E^0 = 0.82$ فولت) كما يأتي:

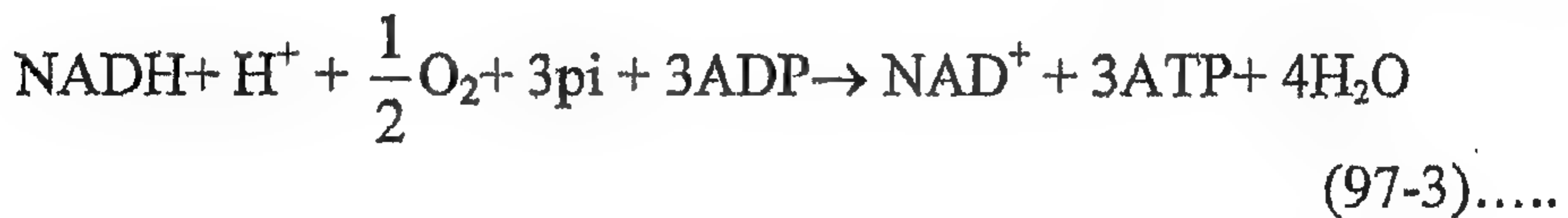
$$AG^0 = - (23.62) [0.32 - 0.82] = - 52.6 \text{ كيلو سعرة.}$$



شكل (3-30) اتجاه جريان الإلكترونات في السلسلة التنفسية وعلاقات جهود الاختزال القياسية $E^{o'}$ والتغير القياسي في الطاقة الحرة ($\Delta G^{o'}$) نتيجة لجريان الإلكترونات.

إن مقدار 52.6 كيلو سعرة ناتجة عن انتقال زوج الكتروني من NADH إلى الأوكسجين في الظروف القياسية أكثر مما يكفي لتخليق ثلاث جزيئات ATP حيث يتطلب هذا $3 \times 7.3 = 21.9$ كيلو سعرة.

إن الزوج الإلكتروني الصادر عن مزيلات الهيدروجين Dehydrogenases المرتبطة بالتميم NAD، ينتقل خلال مواقع حفظ الطاقة الثلاثة وبذلك، يؤدي إلى تكوين 3 جزيئات ATP:



إلا أنه عند إزالة الهيدروجين من السكنسات بمزيلات الهيدروجين المرتبطة الفلافينات، تتكون فقط جزيئتا ATP لكل زوج الكتروني من الفلافين إلى

اليوبكوينون وهذا يعني دخول السلسلة في موقع ما بعد الموقع الأول لحفظ الطاقة (انظر شكل 3-28).

وأخيراً يطلق مصطلح الفسفرة التأكسدية على عملية تكوين المركب ATP من ADP و pi والمرتبطة بانتقال الإلكترونات في السلسلة التنفسية وتتم بفعل الأنزيم ATP synthetase. وهذه تختلف عن التكوين المباشر للمركب ATP بالفسفرة على مستوى الركيزة التي تم ذكر أمثلة لها في تحليل السكر Glycolysis وفي التفاعل المنتج للسكنسات في دورة حامض السترك.

3-1-2-4 حساب الطاقة الناتجة بشكل ATP بالتنفس المعتمد على الكلوكوز؛

يمكن حساب عدد لجزيئات ال ATP الناتجة عن أكسدة الكلوكوز كلياً إلى CO_2 وماء كما في الجدول (3-6). يتضح من الجدول تكوين جزيئتي ATP في مسلك تحليل السكر (Glycolysis أو EMP) بالفسفرة على مستوى الركيزة وست جزيئات بالفسفرة التأكسدية نتيجة أكسدة جزيئتي NADH هوائياً. تكون الفسفرة التأكسدية مصدر جميع جزيئات المركب ATP المتكونة لاحقاً عند أكسدة البيروفات إلى Acetyl CoA وعند أكسدة الأخير في دوره حامض السترك بإستثناء جزيئتي ATP تتكونان بالفسفرة على مستوى الركيزة عند تكون السكسنات وهكذا ينتج عن أكسدة جزيئة كلوكوز 38 جزيئة ATP.

جدول 3-6 عدد جزيئات المركب ATP الناتجة عن تحليل السكر Glycolysis والتنفس لكل جزيئة كلوكوز.

التفاعل Reaction	التميم الأنزيم المختزل (Reduced) (coenzyme)	عدد جزيئات ATP المتكونة التأكسدية	ATP المتكون بالفسفرة على مستوى الركيزة
(Glycolysis (aerobic	2NADH	6	2
2pyruvate → 2 acetyl CoA	2NADH	6	
2isocitrate → 2α-ketoglutarate	2NADH	6	
2α-ketoglutarate → 2 succinate	2NADH	6	2
2succinate → 2 fumarate	2FADH ₂	4	
2malate → 2 oxaloacetate	2NADH	6	

Total ATP generated 38 ATP/glucose

جزيئات المركب ATP الاجمالية

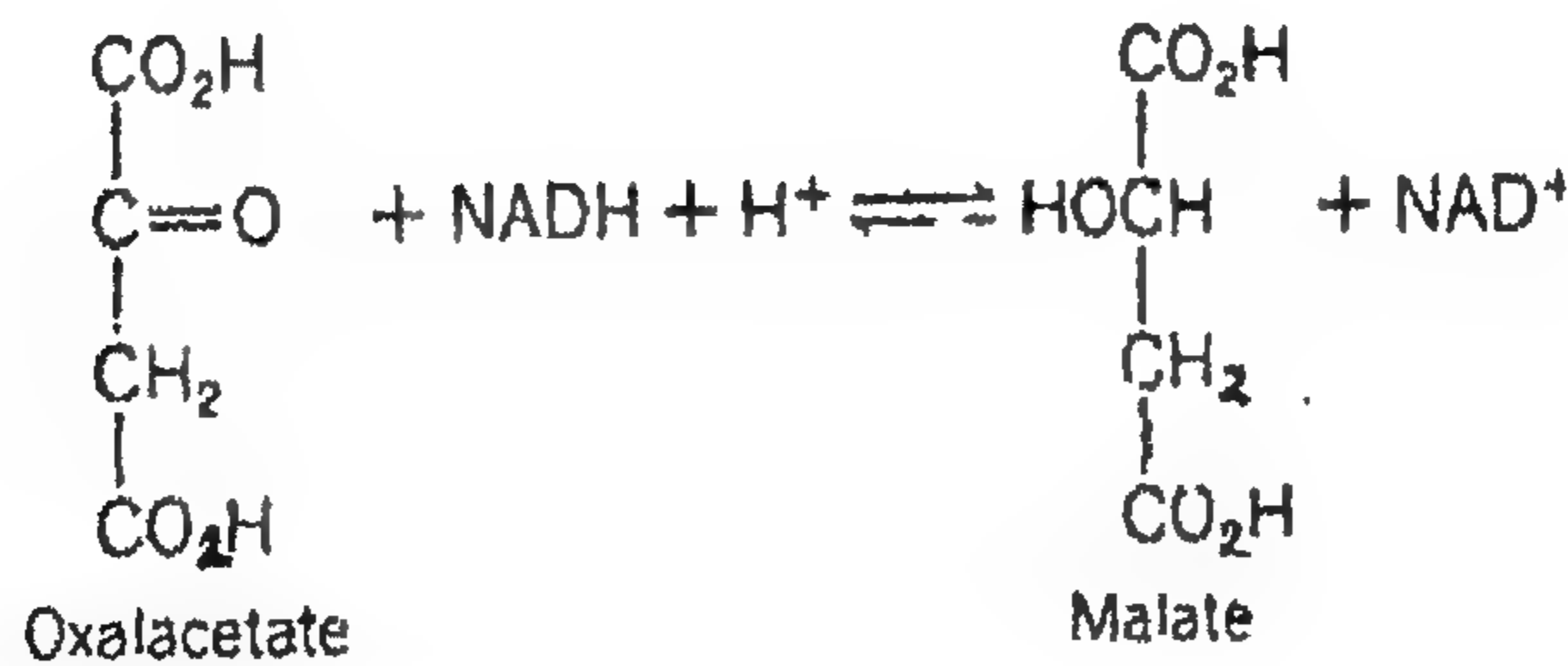
نظام البوابات لإدخال مكافئات الإختزال إلى داخل الماييتوكوندرية

تجدر الإشارة إلى أن غشاء الماييتوكندريا الداخلي غير نفوذ للمركب NADH إلى NAD⁺، ولهذا يجب إعادة أكسدة المركب NADH لتستمر عملية تحليل السكر في الساييتوبلازم. ويتم ذلك بإنتقال الإلكترونات إلى داخل

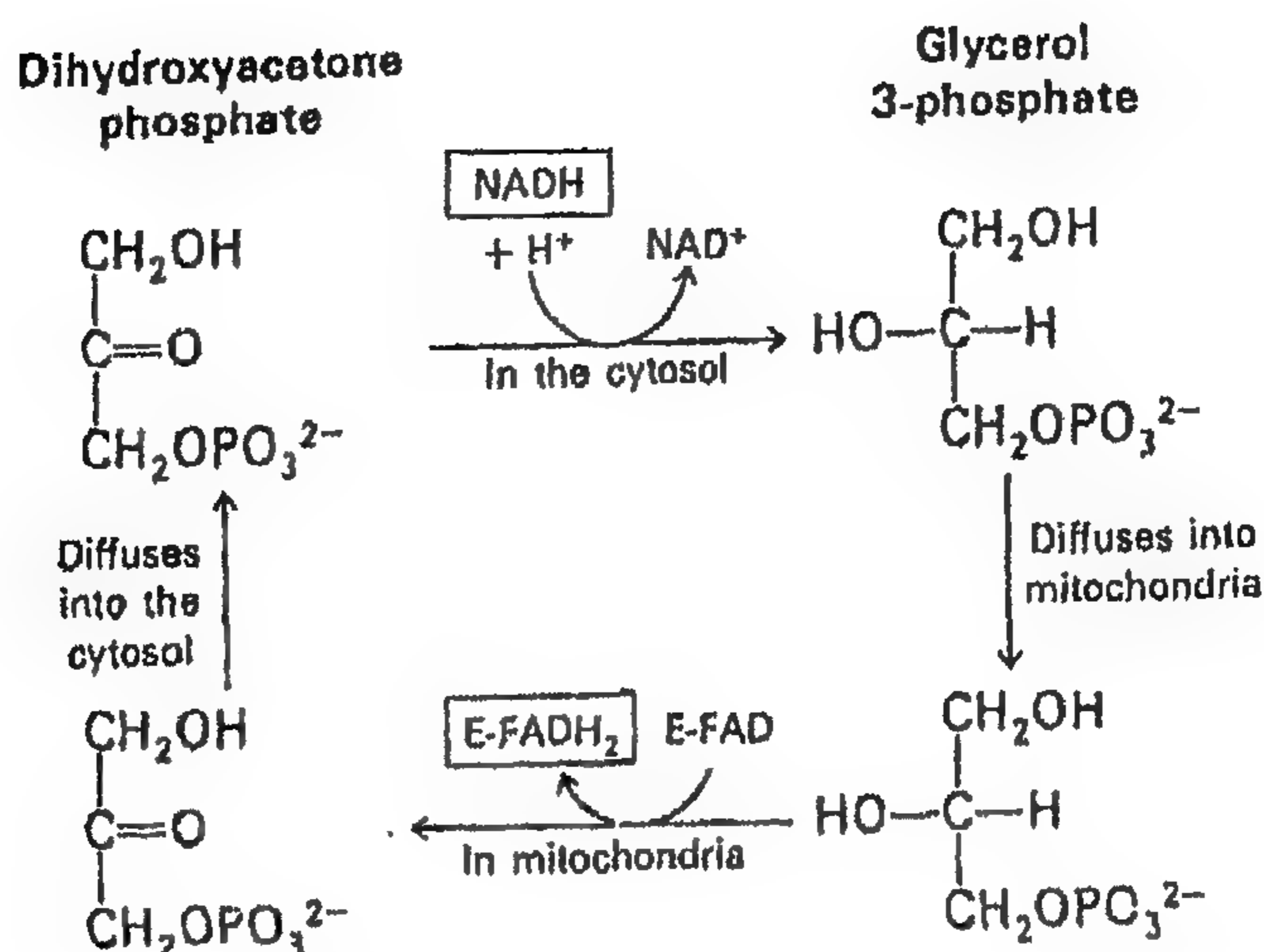
الميتوكوندريا بواسطة جزيئات ناقلة. ومن هذه الجزيئات كلسيرول-3-فسفات التي تدخل الميتوكوندريا بسهولة.

يوضح الشكل (3-31) كيفية تكوين كلسيرول-3-فسفات من فسفات ثنائي phosphate dehydrogenase ثم إعادة أكسدته إلى فسفات ثنائي هيدروكسي الأستون في غشاء الميتوكوندريا الداخلي حيث ينساب الزوج الإلكتروني من كلسيرول-3-فسفات إلى المجموعة FAD المرتبطة بالإنزيم Glycerol-3- phosphate dehydrogenase. يختلف هذا الإنزيم عن نظيره الموجود في الساييتوسول بإستخدامه FAD عوضاً عن NAD^+ داخل الميتوكوندريا يسلم زوجه الإلكتروني إلى اليوبيكوينون (انظر 3-2-1-3) ونتيجة لذلك تتكون جزيئات ATP عوضاً عن ثلاثة في حالة أكسدة ال $NADH$. إن ما ذكر يشكل ما يسمى (بوابة فسفات الكليرول) phosphate shuttle Glycerol وتكون هذه البوابة فعالة في عضلة الطيران للحشرة. وفي هذه الحالة ينتج عن تحليل السكر 6 جزيئات ATP عوضاً عن 8 جزيئات.

تدخل الإلكترونات إلى ميتوكوندريا خلال الكبد والقلب بواسطة (بوابة مالات-اسبارتات) Malate-aspartate shuttle إذ تنتقل الإلكترونات من $NADH$ في الساييتوبلازم إلى الإوكزالواستات:

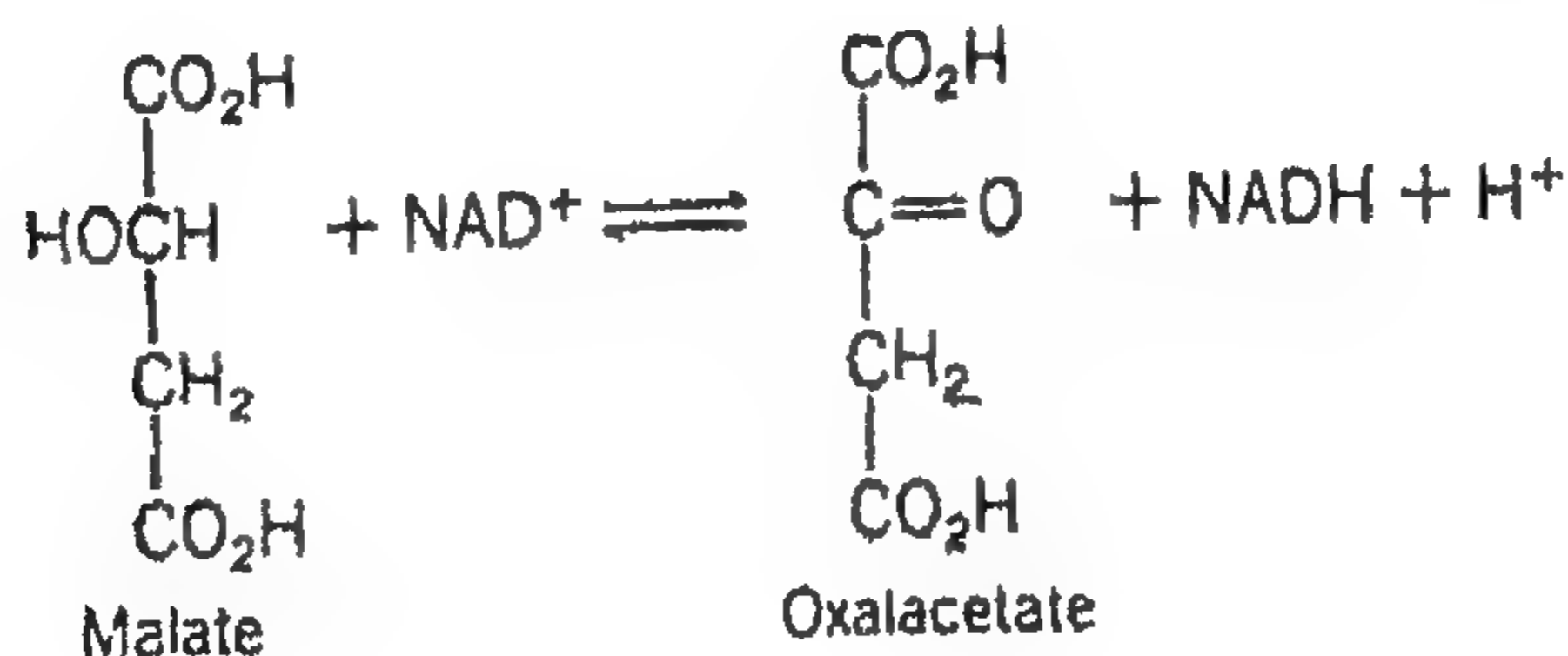


... (3-98)



شكل (3-31) بوابة فسفات الكسيرول

ثم تدخل المالات المتكونة في السايكوبلازم إلى المايكوكوندريا وتعاد أكسدتها باستخدام NAD^+ ويحفز كلا العمليتين الأنزيم Malate dehydrogenase :

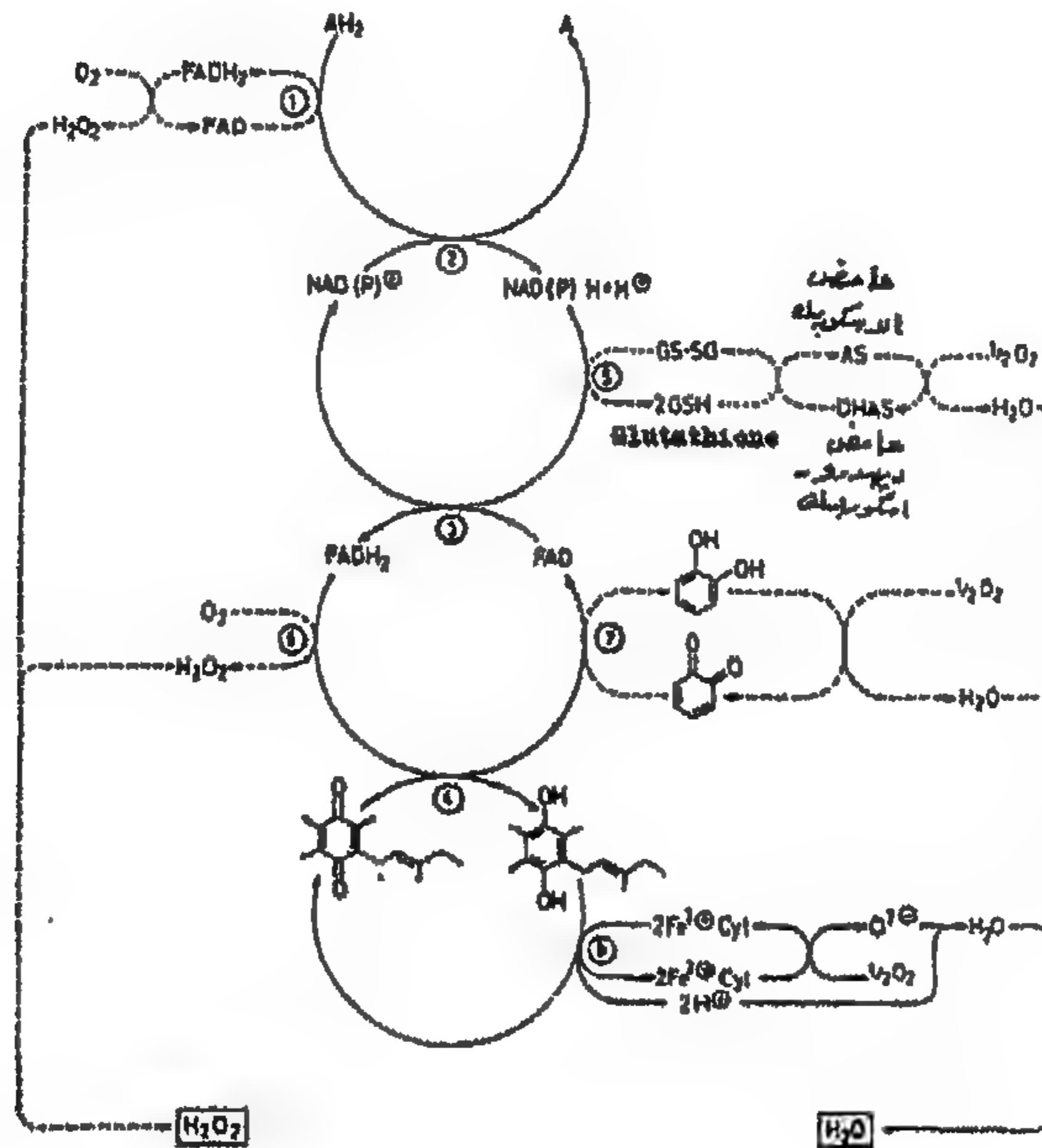


... (3-99)

تكون المحصلة النهائية لهذه البوابة أكسدة NADH الساييتوسولي واختزال NAD^+ في المايكوكوندريا وبذلك تكون حصيلة تحليل السكر في هذه الحالة 8 جزيئات ATP كما في الجدول (3-6).

3-1-1-5 أنظمة الأكسدة النهائية Endoxidation systems :

إضافة إلى انتقال الإلكترونات في السلسلة التنفسية، هناك أنظمة أخرى لجريان الإلكترونات من الركائز إلى الأوكسجين الجزيئي. تلعب هذه الأنظمة دوراً كبيراً في الإختلالات المايكروبية كما تنشأ بواسطتها بعض التغيرات الحيوية على الأغذية ويمكن إختصار هذه الأنظمة بالشكل (3-33) وفيما يأتي بعض تفصيلاتها :



شكل (3-33) أنظمة الأكسدة النهائية Endoxidations. توضح الخطوط المتقطعة هذه الأنظمة أما الخطوط المستمرة فتبين كيفية إعادة ذرات الهيدروجين للسلسلة التنفسية للحصول على الطاقة.

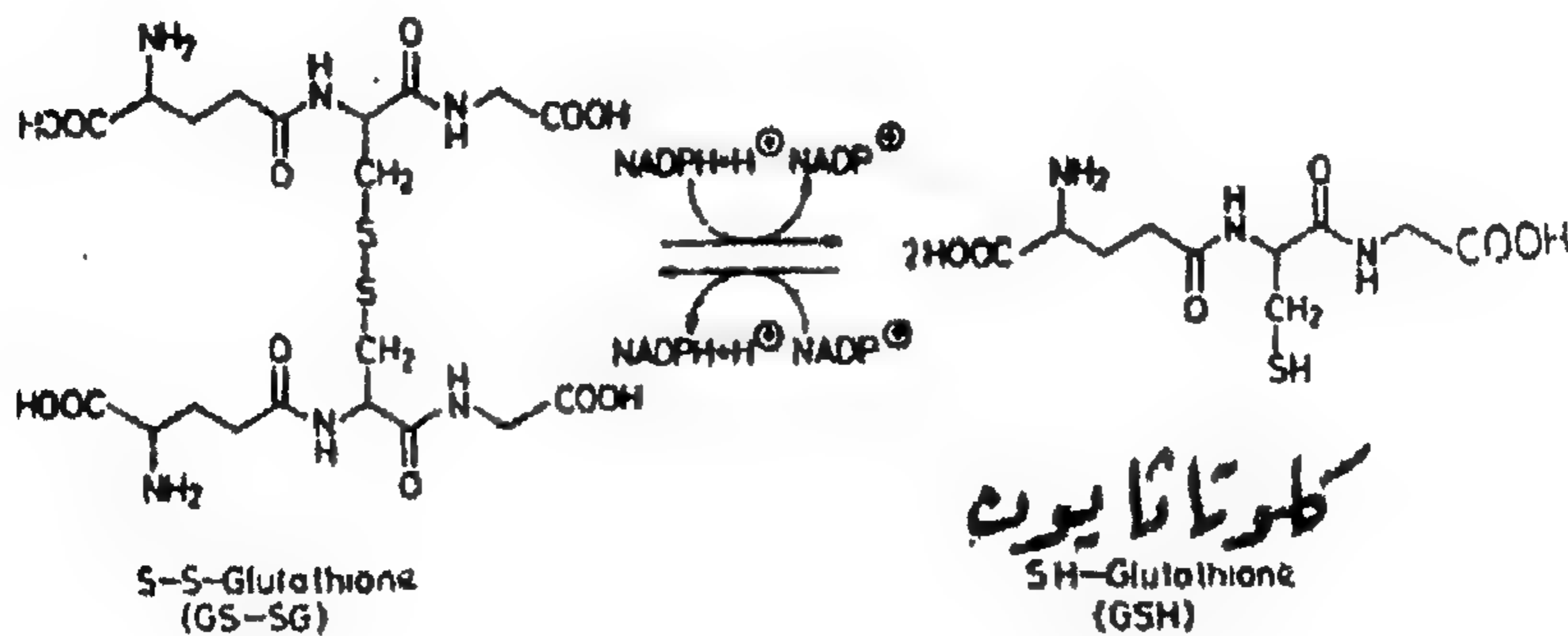
الخطوة الأولى: يمكن نقل ذرات الهيدروجين- الناتجة عن أكسدة AH_2 إلى الأوكسجين لتكوين بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 وكمثال بواسطة الأنزيم Glucose oxidase والأنزيم Xanthine oxidase حيث يكون FAD تميماً لكليهما.

الخطوة الثانية: وتمثل المسلك الرئيس لانتقال ذرات الهيدروجين من الركائز AH_2 عبر مزيلات الهيدروجين المستخدمة NAD^+ أو $NADP^+$.

الخطوة الثالثة: تنتقل ذرات الهيدروجين بالمسلك الرئيس من $NAD(P)^+$ إلى FAD بواسطة مزيلات الهيدروجين المرتبطة بالفلافينات.

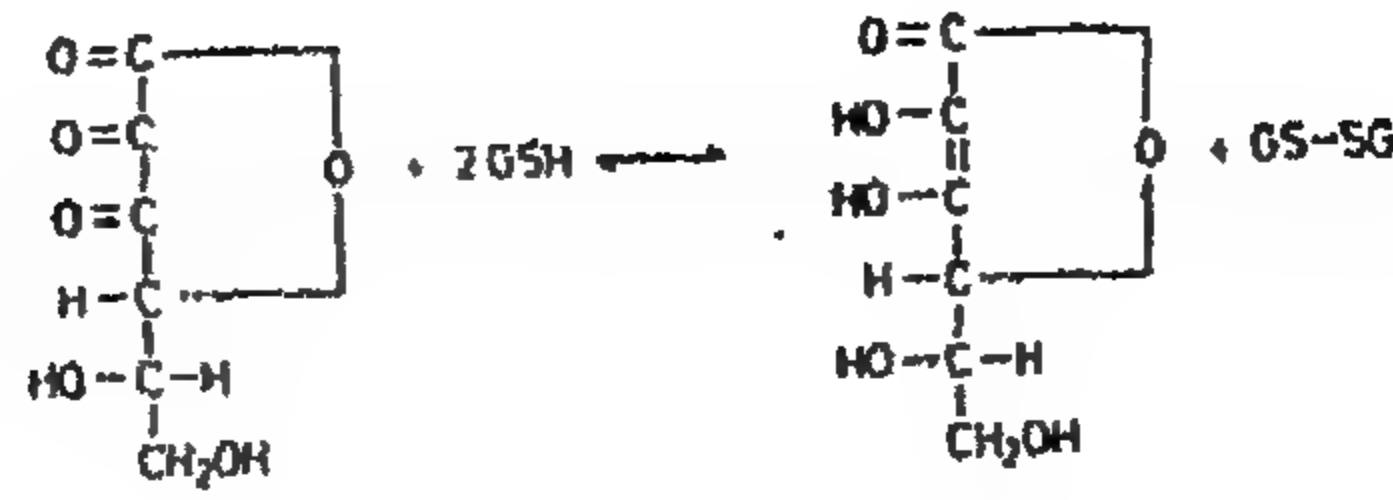
الخطوة الرابعة والثامنة: إنتقال مكافئات الإختزال من $FADH_2$ إلى اليوبيكوينون وعبر الساييتوكرومات إلى الأوكسجين الجزيئي لتكوين الماء ATP.

الخطوة الخامسة: يتفرع عن المسلك الرئيس مسلك آخر يحصل فيه إنتقال ذرات الهيدروجين من NADPH إلى الكلوتاثايون الذي يتحول من الصيغة المؤكسدة إلى الصيغة المختزلة:



... (100-3)

يحفز التفاعل الأنزيم Glutathione reductase. وأخيراً تنقل ذرات الهيدروجين بواسطة الأنزيم Glutathione dehydrogenase إلى Dehydroascorbic acid وبذلك يختزل الأخير إلى حامض الإسكوريك Ascorbic acid:



حامض الاسكوربيك (AS) حامض ديهدرواسكوربيك (DHA)

... (101-3)

وأخيراً يعمل الأنزيم Ascorbate oxidase بمثابة أوكسيداز نهائي في تحفيز التفاعل الآتي:-



... (102-3)

الخطوة السادسة: وتمثل تفاعل أكسدة نهائية آخر ويحصل بواسطة بعض الأنزيمات الفلافينية Flavoenzymes حيث تنقل ذرات الهيدروجين إلى O_2 ويتكون بذلك H_2O_2 .

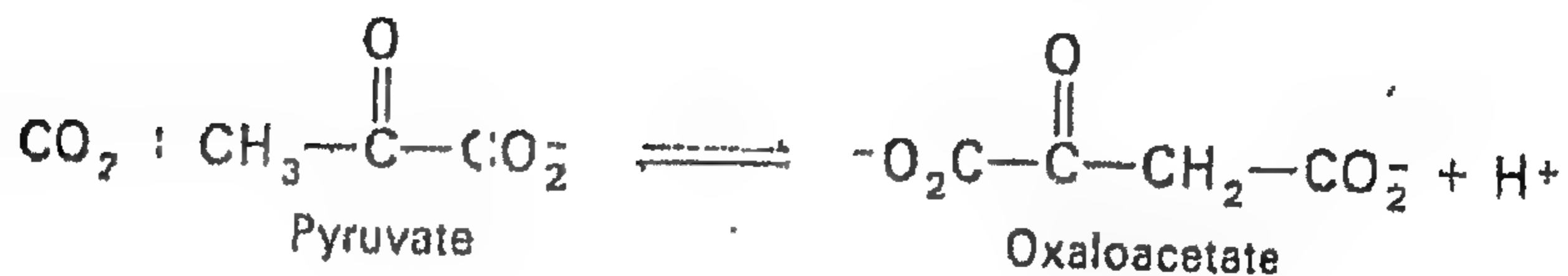
الخطوة السابعة: وهي نظام أكسدة نهائي آخر يحصل في النباتات تنتقل ذرات الهيدروجين إلى الكوينون لتكوين Catechol ثم يؤكسد الأخير بالأنزيم phenol oxidase إلى الكوينون مع تكوين الماء.

3-1-2-6 الاختبارات الهوائية المتخصصة والتخليق الحيوي:

تقوم بعض الأحياء المجهرية بإستخدام الأحماض ثنائية وثلاثية الكربوكسيل لتنفسها وينتج عن العملية ماء وثاني أوكسيد الكربون. كما تعيد تكوين حامض الاوكزالواستك وهو المركب المستقبل لاستيل تميم الأنزيم (Acetyl CoA) إن هذه الأحماض لا تنتج بكميات كبيرة وإنما فقط لسد حاجاتها الأيضية. إلا أن هناك أنواعاً من الفطر لها القابلية على الإكثار من إنتاج الأحماض ثنائية وثلاثية الكربوكسيل الموجودة في

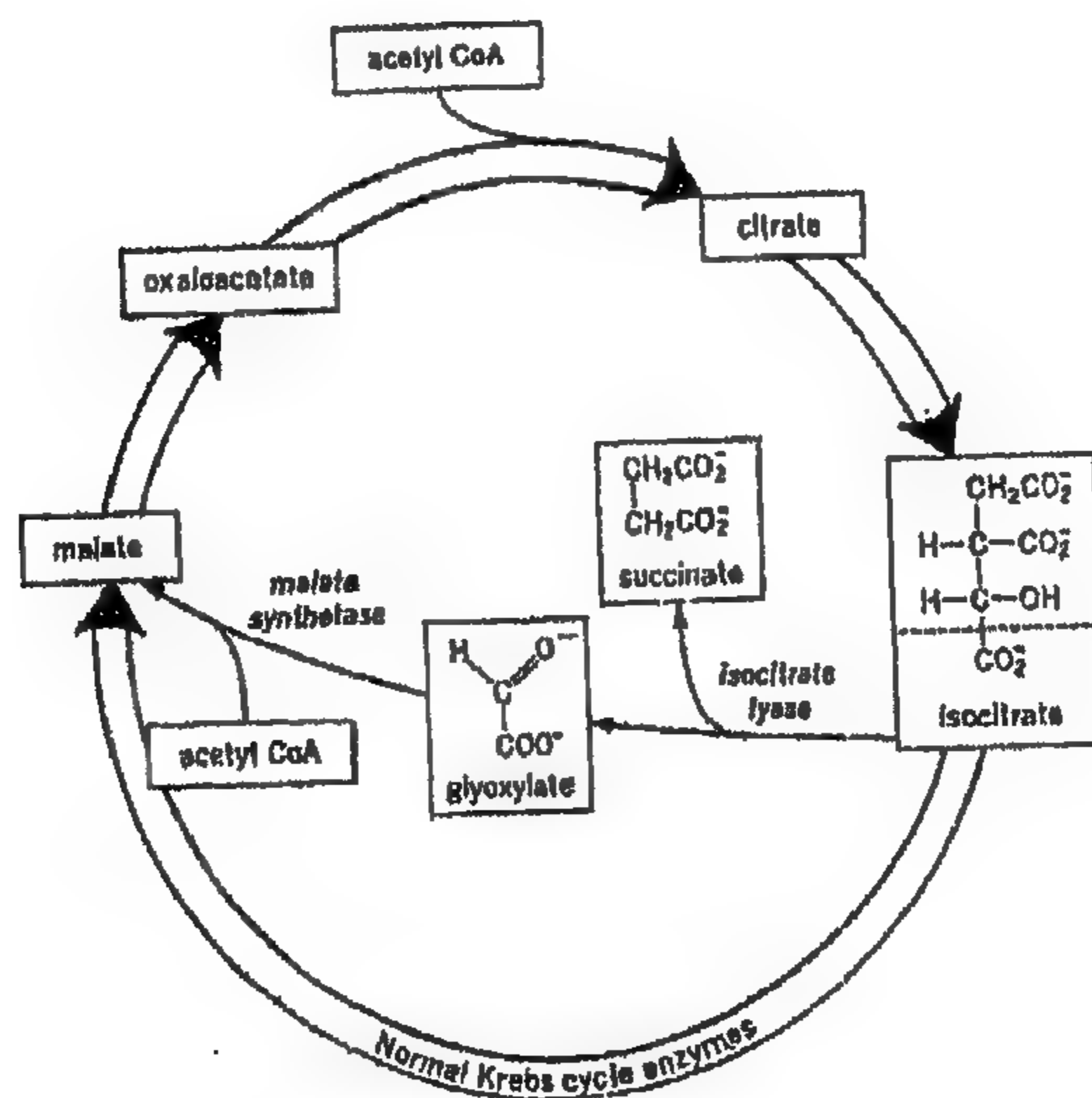
المراحل الوسطية لدورة حامض السترك شكل (3-24) ولقد فسر ذلك بالفرضيات الآتية:

أ. يمكن إدخال ذرة كاربون إضافية في دورة حامض السترك بعملية تثبيت ثاني أكسيد الكربون في حامض البيروفك وتكون حامض الإوكزالواستيك ويسمى هذا التفاعل بـ Wood-werkman reaction :



... (3-103)

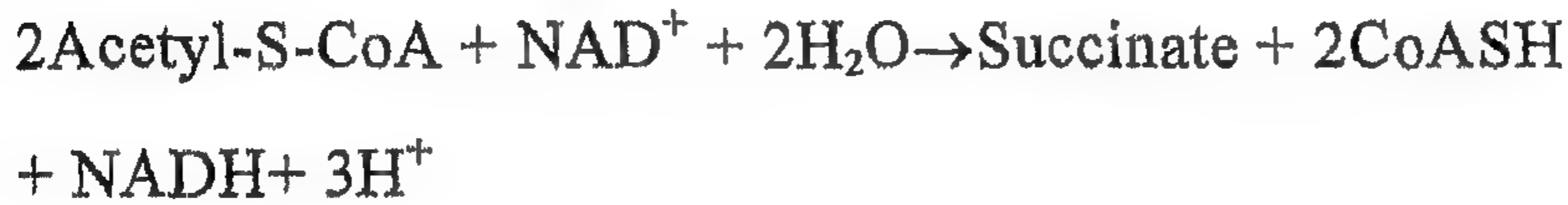
كما يمكن أيضاً تكوين حامض المالك بتفاعل تكثيف بين Acetyl CoA وحامض الكلايكوكسل الذي يتكون في دورة الكلايكوكسلات (شكل 3-33).



شكل (3-33) دورة الكلايكوكسلات. إن السكسنات المتكونة زائدة عن حاجة دورة حامض السترك وتستخدم في التخليق الحيوي.

تحصل دورة الكلايوكسالات بصورة خاصة عند إنبات بذور النباتات الغنية بالدهون، وتوجد في بعض الأحياء المجهرية وتختلف عن دورة حامض الستريك بوجود انزيمين: الأول [Threo-DS Isocitrate-Glyoxylate-Lyase] [Isocitrate lyase]

ويقوم بتحويل السترات إلى السكسنسات والكلايوكسالات. تعد السكسنسات ناتجاً نهائياً في الدورة ويمكن إستخدامها في تخليق مركبات أخرى أكثر تعقيداً. أما الكلايوكسالات فتتكاثف مع Acetyl CoA بوجود الأنزيم الثاني الخاص بهذه الدورة وهو الأنزيم Malate Synthetase ويتكون نتيجة لذلك حامض المالك. يتضح مما ذكر تثبتت وحدتي إستيل (الأولى عند تكوين السترات والثانية عند تكوين المالات) وإنتاج السكسنسات في دورة تامة للكلايوكسالات ويمكن كتابة المعادلة الإجمالية لها كالآتي:



....(104-3)

ب. يؤدي تنشيط الأنزيم Citrate synthase إلى إنتاج المزيد من الأحماض ثنائية وثلاثية الكربوكسيل.

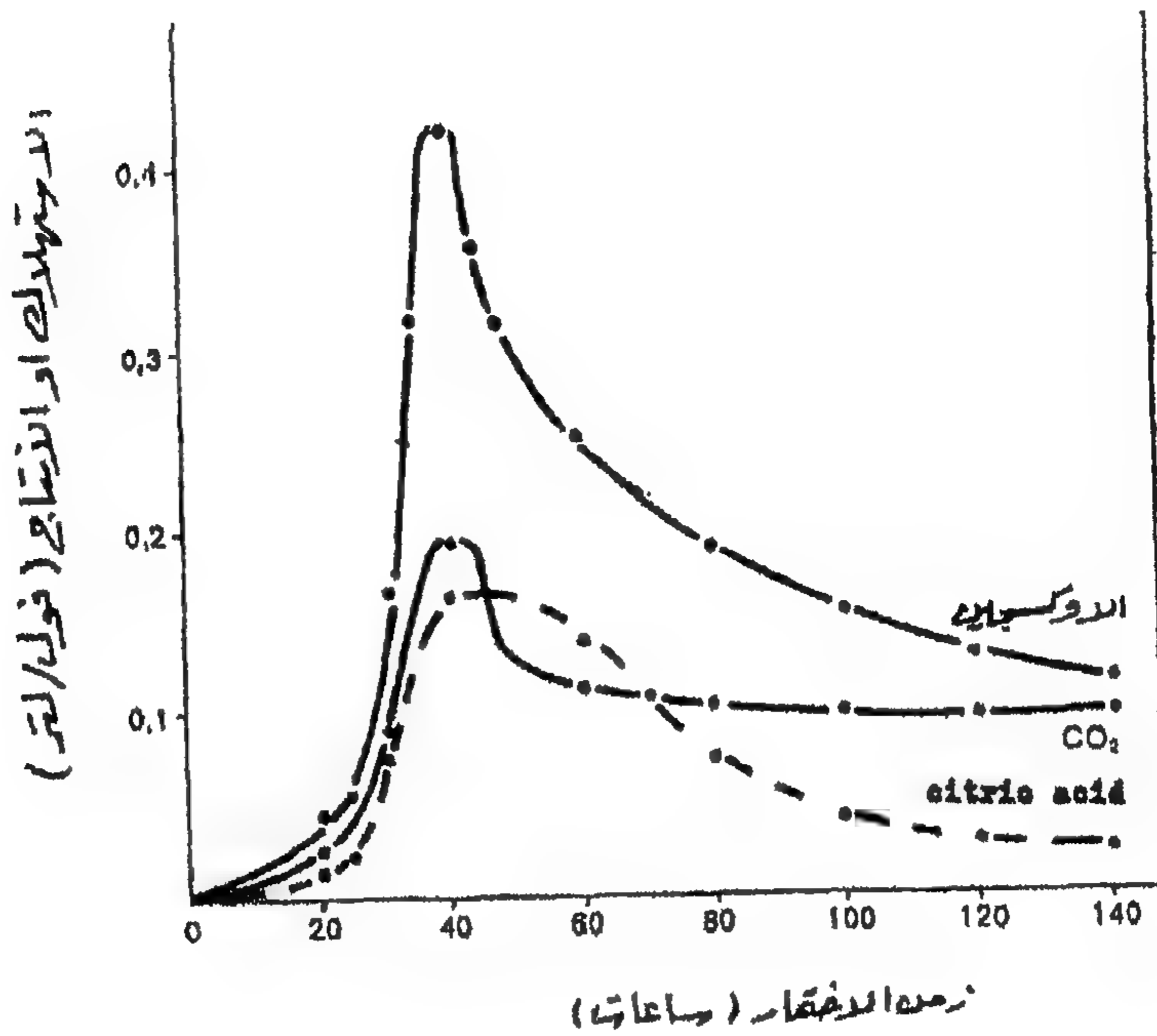
الإختمار المنتج لحامض الستريك:

تزداد كمية حامض الستريك الناتج عن الإختمار وقد تصل إلى 70% من السكر المختمر وذلك عند تثبيط كل من الأنزيمات: Aconitase و Isocitrate dehydrogenase و Succinate dehydrogenase و Fumarate dehydrogenase و Malate dehydrogenase. أي عند تثبيط نكوص حامض الستريك. يتم الإختمار المنتج لحامض الستريك بواسطة سلاسلات مختارة من الفطر *Aspergillus niger* ويعد مهماً في تكنولوجيا الغذاء حيث أن حامض الستريك

يكسب المادة الغذائية نكهة خاصة ويستعمل لذلك بكميات كبيرة في صناعة المشروبات ويبلغ الإنتاج السنوي لهذا الحامض 200000 طن وتتزايد هذه الكمية سنوياً.

يتم الإختمار المنتج لحامض السترك على الأغلب بطريقة المزارع السطحية وباستعمال المولاس بمثابة ركيزة في الإختمار. ولقد طورت مؤخراً المزارع الغاطسة أيضاً لإنتاج حامض السترك وفي كلتا الحالتين يجب توفير تهوية جيدة للإختمار.

وضح الشكل (3-34) العلاقة بين إستهلاك الأوكسجين وتكوين حامض السترك CO_2 .



شكل (3-34) العلاقة بين استهلاك الأوكسجين وتكوين حامض السترك وثاني أوكسيد الكربون.

ولإنتاج حامض السترك من قبل الفطر المذكور، يجب أن يكون الرقم الهيدروجيني للمحيط حامضياً جداً (2.2-2) وإلا تحول الإختمار إلى إنتاج كميات كبيرة من حامض الإوكزالك والكلوكونك وهذا ما يحصل في المحيط الحامضي الضعيف.

وللإنتاج الأوفر لحامض السترك، يجب توفر السكر بتركيز 10-20% في الركيزة المستعملة للإختمار. كما إن إضافة Hexacyanoferrate للركيزة يقلل من تأثير أيونات المعادن الثقيلة وذلك بتكوين معقد معها كما يحصل مع الحديد والمنغنيز. كما إن إضافة الميثانول في بعض الحالات يزيد من تكوين حامض السترك.

يمكن ترسيب حامض السترك المتكون بعد 3-4 أيام في المزارع الغاطسة و 5-10 أيام للمزارع السطحية ويستخدم الكالسيوم لهذا الغرض. ويتم الحصول على حامض السترك الحر بمعاملة أملاح السترات بحامض الكبريتيك المخفف:



Citric acid



تجدر الإشارة إلى أن الإنتاج الأوفر لحامض السترك يتم عند زيادة سرعة التفاعلات المؤدية إلى إنتاجه وتنشيط التفاعلات المؤدية إلى نكوصه وكمثال يؤدي تثبيت CO_2 لإنتاج الأوكزالواستات من البيروفات إلى زيادة تكوين حامض السترك وهكذا نلاحظ عدم فقدان CO_2 عملياً في الفترة النشطة للإختمار المنتج لحامض السترك ويمكن توضيح مجمل تفاعلات هذا الإختمار كالآتي:

- (107-3) ... Glucose \rightarrow 2pyruvic acid
 (108-3)... Pyruvic acid \rightarrow Acetyl CoA + CO₂
 (109-3)... Pyruvic acid + CO₂ \rightarrow Oxaloacetic acid
 (110-3)... Oxaloacetic acid + Acetyl CoA \rightarrow Citric acid

(111-3).... Glucose Citric acid المحصلة:

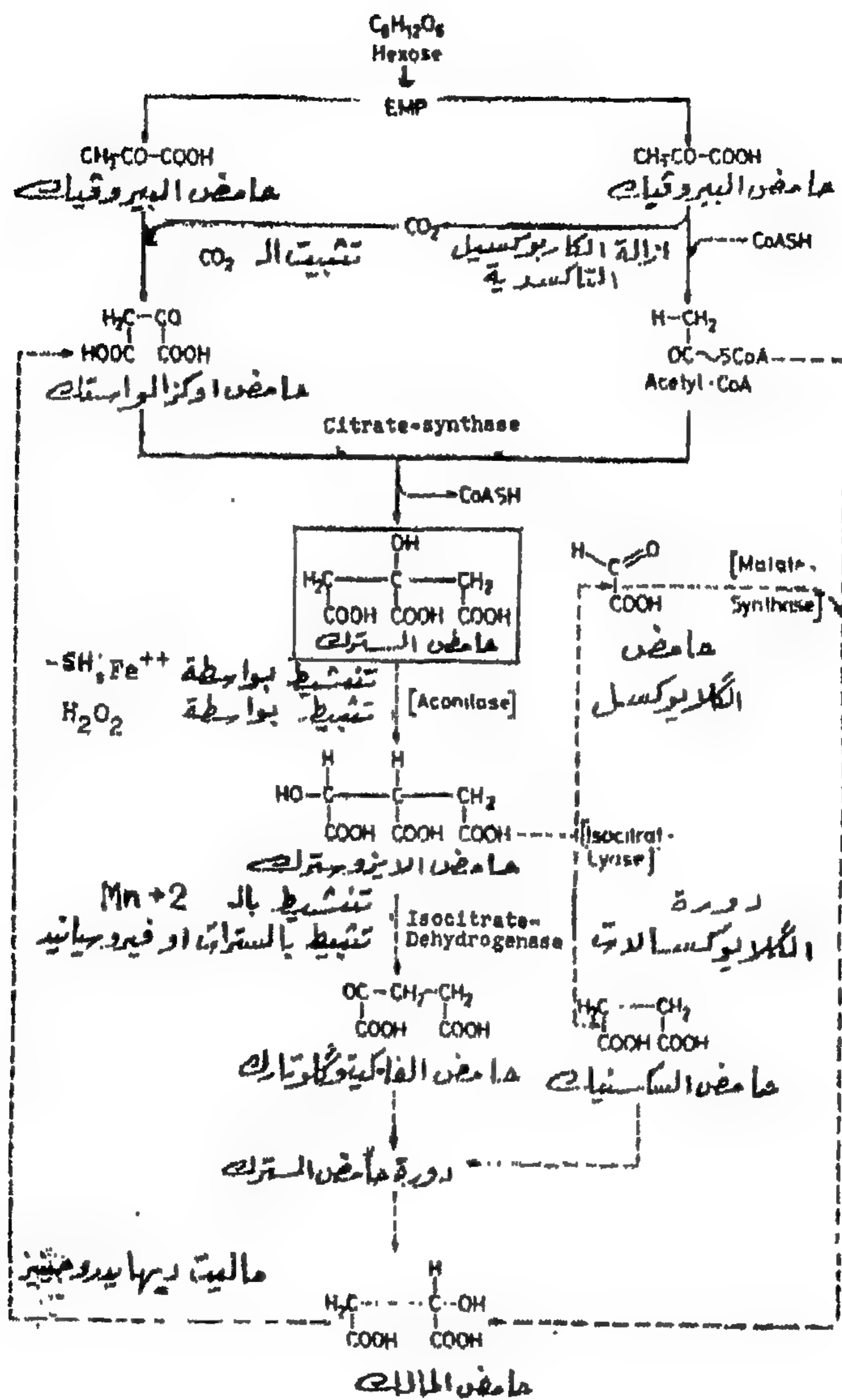
ولتثبيت CO₂ أو HCO₃⁻ هناك آليات مختلفة غير ما ذكر في أعلاه وكما موضح في الشكل (3-35) وهي:

أ. تكوين حامض المالك بوجود أنزيم المالك

ب. تكوين حامض الاوكزالواستك بوجود الأنزيم

Phosphoenolpyruvate carboxykinase

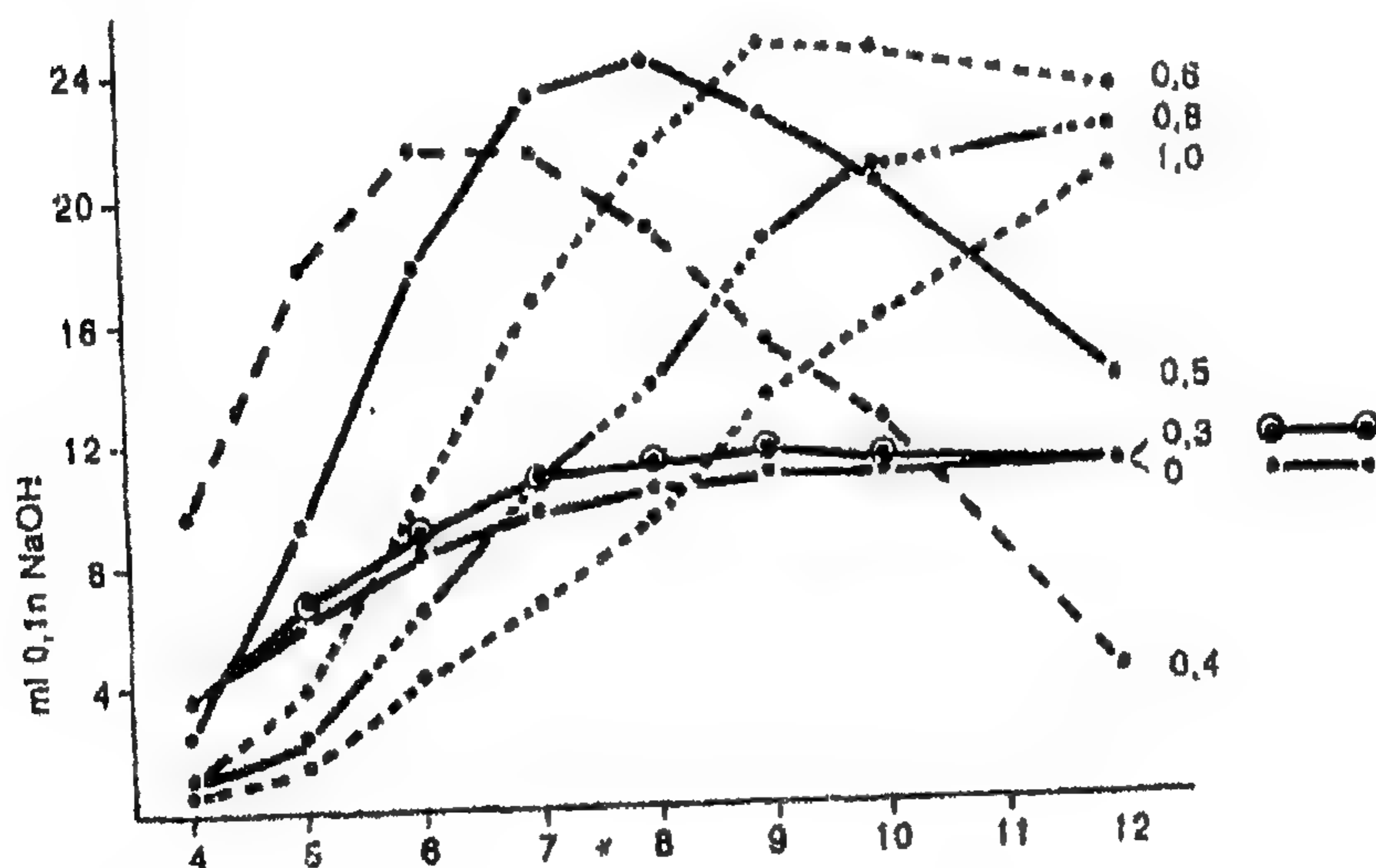
يوضح الشكل (3-36) التفاعلات المؤدية إلى تكوين حامض السترك في الفطر *Aspergillus niger*. يوضح الشكل وجود دورة الكلايوكسيلات إضافة إلى دورة حامض السترك وتفاعل تثبيت ثاني أوكسيد الكربون لإنتاج الاوكزالواستات.



شكل (3-36) الاختصار المنتج لحامض الستريك في الفطر *Aspergillus niger*.

لا يزال هناك بعض الغموض حول آلية إنتاج حامض الستريك بكميات كبيرة. وتلعب عملية تثبيط أنزيمات دورة حامض الستريك دوراً حاسماً في هذا المجال وكمثال تثبيط الأنزيم Isocitrate dehydrogenase تنافسياً بواسطة حامض الستريك. إن تراكم حامض الستريك يؤدي إلى انخفاض الرقم الهيدروجيني إلى أقل من 2.

يمكن زيادة إنتاج حامض الستريك بإضافة Hexacyano Ferrate (II) كما ذكر سابقاً لتكوينها معقدًا مع الحديد الموجود في الأنزيم Aconitase والمنغنيز الموجود في الأنزيم Isocitrate dehydrogenase وبذلك يثبط هذان الإنزيمان. يوضح الشكل (3-37) تأثير التركيزات المختلفة من هذا المركب في إنتاج حامض الستريك. يتضح من الشكل بأن التركيز المثالي هو 0.6 غم/لتر.



شكل (3-37) تأثير التركيزات المختلفة من $(\text{Hexacyanoferrate I})K_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ -
مقدرة بالفراغات / لتر - في سير الاختمار في المولاس.

لحامض الستريك استخدامات أخرى إضافة إلى ما ذكر عن استعمالاته في تكنولوجيا الأغذية وفي المشروبات. يكون حامض الستريك ثلاثة أنواع من الأملاح

والاسترات وهي Mono-, Di- and Tri- Citrate. تكون الأملاح القاعدية عادة سهلة الذوبان وتتبلور بصورة جيدة، ولقد عرف تأثير الأملاح القاعدية للاسترات لمنع تخثر الدم منذ 1890. ولمنع التخثر يضاف 0.4-1% Trisodium citrate. يكون هذا الملح اواصر مخلبية مع أيونات الكالسيوم لمنع التخثر. تكون أملاح حامض الستريك ذات التكافؤ المتعدد، من الأيونات الموجبة صعبة الذوبان مثل Tricalcium citrate ولكن إضافة كميات فائضة من حامض الستريك إلى محاليل هذه الأملاح تؤدي إلى تكوين أملاح معقدة ذائبة في الماء. يوضح الجدول 3-7 صفات بعض أملاح السترات.

جدول 3-7: صفات بعض أملاح السترات

الذوبانية	الوزن الجزيئي	PH محلول 1%	التركيب	
g/100g H ₂ O				
20°C 16.8	232.13	3.75	NaC ₈ H ₇ O ₇ H ₂ O	Monosodium citrate
50°C 37.4				
80°C 64.7				
20°C 75.0	294.11	8.55	Na ₃ C ₆ H ₅ O ₂ H ₂ O	Trisodium citrate
50°C 87.2				
80°C 99.8				
20°C 79.4	348.16	7.95	Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ 5 _{1/2} H ₂ O	
50°C 121.8				
80°C 199.5				
20°C 5.1	324.42	7.25	K ₃ C ₆ H ₅ O ₇ H ₂ O	Tripotassium citrate
50°C 186.4				
80°C 199.5				

الذوبانية g/100g H ₂ O	الوزن الجزيئي	PH محلول %1	التركيب	
20° C 5.1	422.32	3.2	Monccalcium citrate	CaH ₄ (C ₆ H ₅ O ₇) ₂
50° C 4.5				
80° C 2.1				
20° C 0.82	284.24	5.6	Dicalcium citrate	CaH(C ₆ H ₅ O ₇) 3H ₂ O
50° C 0.51				
80° C 0.49				
20° C 0.09	570.52	7.8	Tricalcium citrate	Ca ₃ (C ₆ H ₅ O ₇) ₂ 4H ₂ O
50° C 0.07				
80° C 0.06				

الإختمار المنتج لحامض المالك:

يعد هذا النوع من الإختمار موعوباً في تكنولوجيا الأغذية ولا سيما في صناعة المشروبات ويحصل في سلاسل مختارة من *Aspergillus oryza*. لتخليق حامض المالك علاقة وثيقة بحامض الفيورماك لأن الأخير يمثل السلف له.

الإختمار المنتج لحامض الفيومارك:

يتم هذا الإختمار في بعض السلالات مثل *Rhizopus nigricans* و *R. arrhizus* ولكنه لا يلعب دوراً في التصنيع الغذائي لأن الطرق الكيميائية لإنتاج حامض الفيومارك انفع من الإختمار.

ويستخدم حامض الفيومارك لإعطاء نكهة خاصة في صناعة المشروبات.

يتم إنتاج هذا الحامض بكميات كبيرة في الإختمار نتيجة لإدخال Acetyl CoA دورة الكلايوكسالات كما يتكون أيضاً نتيجة تثبيت ثاني أوكسيد

الكربون في حامض البيروفيك وتكوين الاوكزالواستك الذي يرتبط بالاستيل
 تميم الأنزيم (Acetyl CoA) لإعطاء حامض السترك. ومن خلال دورة حامض
 السترك يتم تكوين الفيومارك. يمكن توضيح ما تقدم بالمعادلات الآتية:

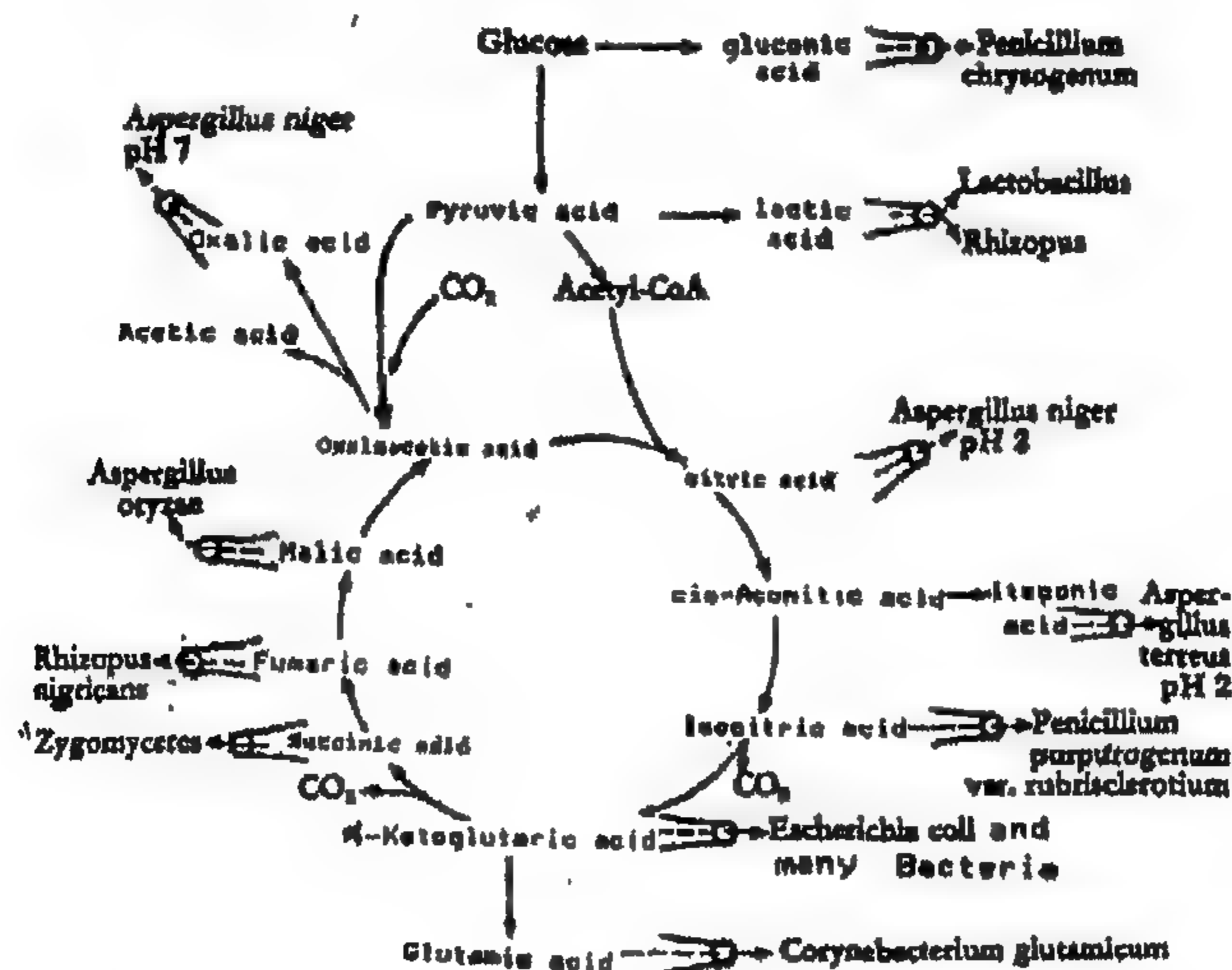


وأخيرا يوضح الجدول 3-8 أهم الأحياء المجهرية المتميزة بقدرتها على إنتاج
 الأحماض العضوية من دورة حامض السترك.

كما يوضح الشكل 3-38 أنواع الفطريات الطحلبية التي تتمكن في
 ظروف خاصة إنتاج المركبات الوسطية في دورة حامض السترك.

جدول (3-8): الأحماض العضوية التي تنتجها الأحياء المجهرية في الإختمار الهوائي.

الأحماض العضوية	الكائنات المجهرية
Cis-Aconitic acid	Aspergillus niger A. itaconicus
Isocitric acid	Penicillium purpurogenum v. rubrisclerotium
Itaconic acid	Aspergillus terreus. A. itaconicus
α -Ketoglutaric acid	Acetobacter orientalis Pseudomonas fluorescens. P. ovalis. Aerobacter aerogenes
Succinic acid	Rhizopus -Arten
Fumaric acid	Rhizopus nigricans, R. delemar. R. arrbizus Aspergillus fumigatus
Malic acid	Rhizopus nigricans. Aspergillus oryzae. A. flavus. A. parasiticus. penicillium corylophilum. Pseudomonas trifolii. Lactobacillus brevis
Oxalic acid	Aspergillus niger (PH 7.0)
Pyruvic acid	Acetobacter suboxydans. Pseudomonas aeruginosa . Xanthomonas- Arten



شكل (3-38) تكوين الأحماض العضوية المختلفة بواسطة بعض أنواع الفطريات الطحلبية..

الاختمار المنتج لحامض الخليك ونواتج الأكسدة المشابهة له :

تعتمد جميع الإختمارات التي مر ذكرها على تقويض السكريات سداسية الكربون Hexoses بمسلك تحلل السكر EMP حيث يؤدي المسلك إلى تكوين حامض البيروفيك الذي يتحول بدروه إلى Acetyl CoA يدخل دورة حامض الستريك، ولعدم استمرار تفاعلات دورة مستمرة لأسباب ذكرت سابقا، تتكون نتائج الإختمار المختلفة مثل حامض الستريك والفيومارك والمالك.

هناك نوع آخر من الإختمارات الهوائية لا يتغير فيها عدد ذرات كربون الركيزة المستخدمة وإنما تتغير فقط المجموعة الفعالة ويعد هذا النوع من الإختمار مهما تكنولوجيا ومن أنواعه:

أ- تحول الايثانول إلى حامض الخليك

ب- تحول الكلسيرول إلى ثنائي هيدروكسيل الاستون

ج- تحول المركب Sorbit إلى Sorbose

د- تحول الكلوكوز إلى حامض الكلوكونك

هـ- تحول الكلوكوز إلى حامض Ketogluconic acid-2

و- تحول الكلوكوز إلى حامض Iso-ascorbic

ز- تحول الكلوكوز إلى حامض L-ascorbic

ويحصل التأكسد في هذه التخمرات نتيجة لسحب ذرات الهيدروجين ونقلها عبر السلسلة التنفسية لتكوين الماء وإنتاج الطاقة بشكل ATP (شكل 3-38).

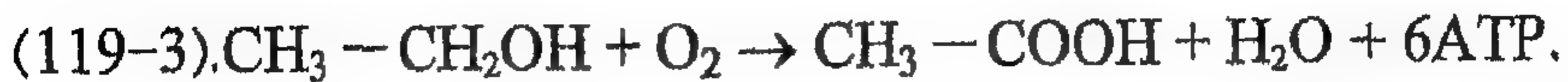
الاختمار المنتج لحامض الخليك من الايثانول؛

الاختمار المنتج لحامض الخليك (الخل) عرف منذ مئات السنين. ويستخدم في صناعة الخل بكتريا من جنس *Acetobacter* قادرة على تحويل الإيثانول إلى حامض الخليك. وتتصف بعض أنواع هذه البكتريا مثل *Acetobacter xylinum* بتكوين طبقة غشائية على سطح السائل المختمر.

تستخدم حالياً أجهزة لتصنيع الخل تستعمل فيها أجهزة دوران *Recirculating generators* تمرر السائل الكحولي بانتظام على نشارة الخشب ويزود الحيز السفلي من الجهاز بثقوب للتهوية أو بمروحة لدفع الهواء. كما أن هناك أجهزة أخرى مستخدمة في الصناعة على نطاق ضيق لإنتاج الخل بطريق التحليل المغمور *Submerged*

Acetification حيث يستخدم صهريج من الصلب غير القابل للصدأ والممتلىء بالسائل الكحولي ويضاف إليه بكتريا حامض الخليك. يكون الصهريج مزوداً بجهاز تهوية يقوم بدفع الهواء في السائل على هيئة فقاعات منتظمة فيتأكسد الكحول إلى خل. يمكن بهذه الطريقة الحصول على حوالي 99% من كمية الخل المحسوبة نظرياً. كما تتميز هذه الطريقة بعدم استعمال نشارة الخشب أو الفحم لذلك لا يخشى من تلوث الخل بتأثير الحديد الموجود في الفحم.

المعادلة الإجمالية للاختمار المنتج لحامض الخليك كالآتي:-



الخطوة الأولى: يمكن توضيح المراحل الوسيطة لتحويل الايثانول إلى حامض الخليك في الشكل (3-38) حيث تبدأ سلسلة التفاعلات بإزالة ذرات

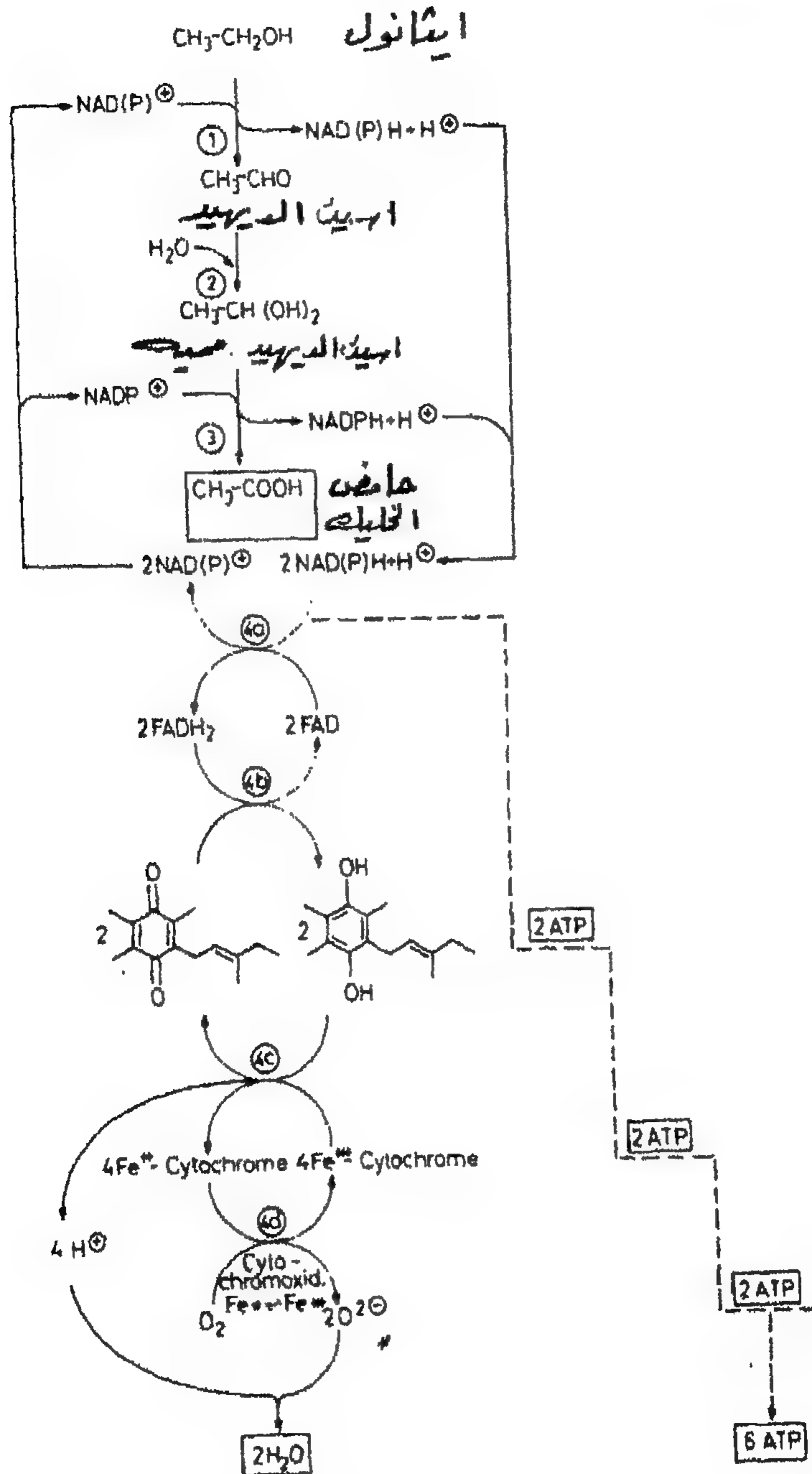
الهيدروجين من الايثانول وتحويله إلى استيالدهيد بواسطة الأنزيم Alcohol dehydrogenase الذي يستخدم NAD^+ أو $NADP^+$ تبعاً لنوع البكتيريا Acetobacter فمثلاً في البكتيريا Acetobacter peroxydans يكون التميم الأنزيمي $NADP^+$.

الخطوة الثانية: وهي تفاعل كيميائي صرف يحصل دون مساعدة أنزيم ويتم فيه تحول الاستيالدهيد إلى Acetaldehyde hydrate بتفاعله مع الماء.

الخطوة الثالثة: تحول Acetaldehyde hydrate إلى حامض الخليك بواسطة الأنزيم المتخصص للـ $NADP^+$ والمسمى NADP-specific aldehyde dehydrogenase.

الخطوات a4 إلى d4 تمثل تفاعلات السلسلة التنفسية وفيها تنقل ذرات الهيدروجين إلى الأوكسجين الجزيئي وتستخدم الطاقة المتحررة نتيجة لذلك في تكوين الـ ATP بالفسفرة التأكسدية.

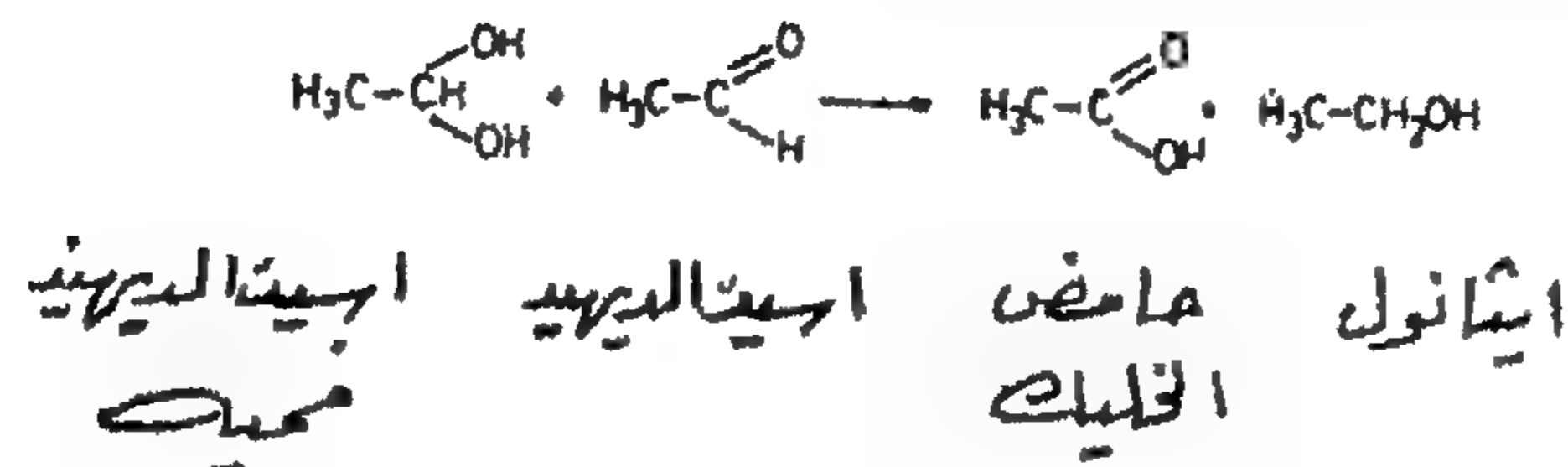
إذا دققنا في عدد جزيئات الماء المتحررة في الشكل 3-39 وقارناها بعدد جزيئات الماء الناتجة في المعادلة الإجمالية (معادلة 3-119) لوجدنا جزيئين متحررتين في الشكل المذكور وجزيئة واحدة في المعادلة الإجمالية والسبب يعود لإستهلاك جزيئة ماء لتحول الاستيالدهيد إلى Acetaldehyde hydrate وبذلك تكون المحصلة جزيئة ماء واحدة.



شكل (3-39) الاختصار المنتج لحمض الخليك.

يلاحظ من الشكل 3-39 كذلك تكوين جزيئتي تميم أنزيمي مختزلتين أولاهما في الخطوة الأولى وثانيتها في الخطوة الثالثة وبذلك ينتج عن أكسدة جزيئة كحول 6 جزيئات ATP نتيجة للفسفرة التأكسدية.

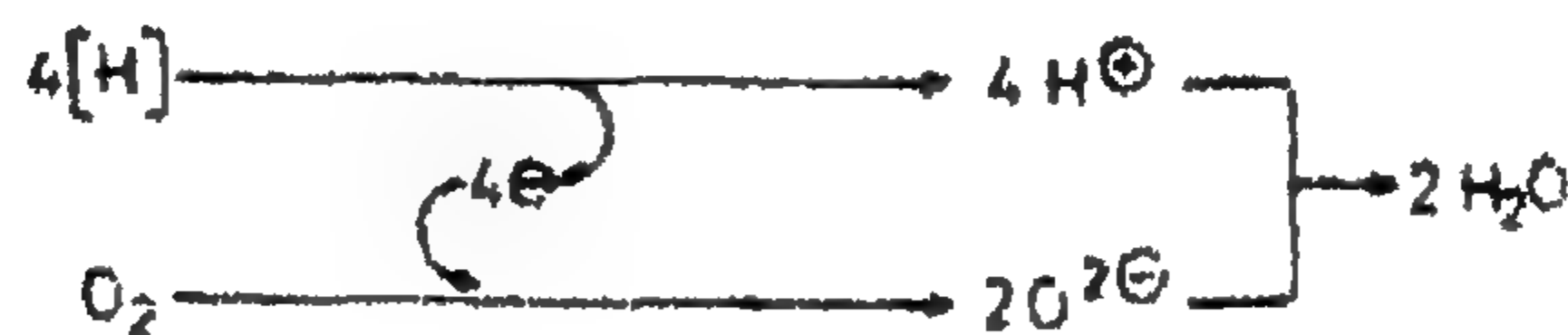
إذا شح الأوكسجين، تستطيع بكتريا حامض الخليك تحفيز التفاعل الآتي والمسمى Dismutation reaction.



... (120-3)

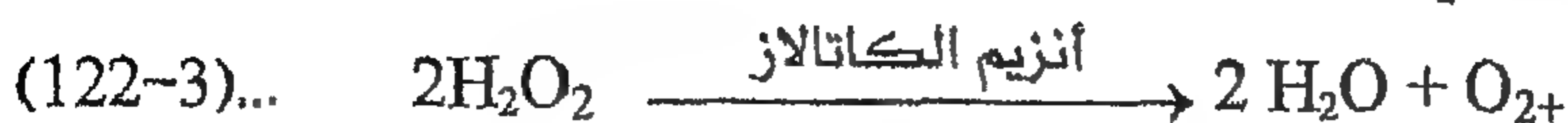
يمكن تصور هذه المعادلة إزالة الهيدروجين من Acetaldehyde hydrate ونقلها إلى الاستيالدهيد الذي يعمل بمثابة متقبل للهيدروجين. لاحظ تكوين الإيثانول في هذا الإختمار. إذن في ظروف شحة الأوكسجين يتكون نصف كمية حامض الخليك المنتجة عند توفره.

تستطيع بعض أنواع بكتريا حامض الخليك أن تكون بيروكسيد الهيدروجين كما يأتي:



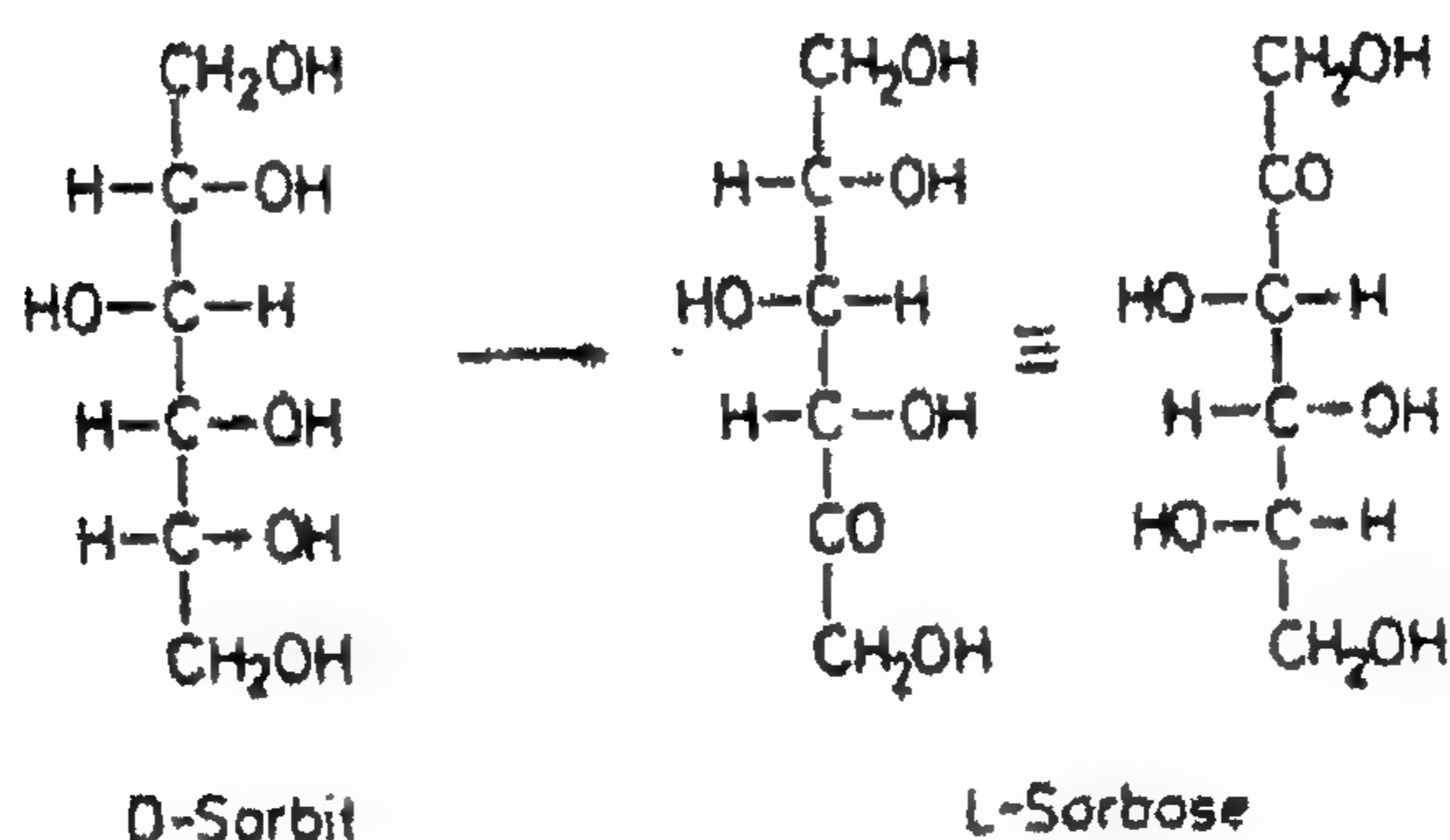
... (121-3)

يتحلل H_2O_2 الناتج بفعل انزيم الكاتالاز Catalase لبكتريا حامض الخليك الهوائية كالآتي:



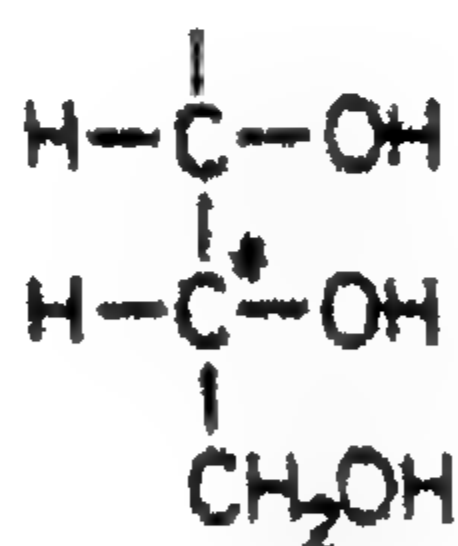
أكسدة Sorbit — D إلى L-Sorbose :

إضافة إلى دور بكتريا حامض الخليك في إنتاج " الخل " ، تقوم هذه البكتريا وبالذات Acetobacter suboxydans بتفاعل آخر مهم في المايكروبايولوجي الصناعي وهو تحول D- sorbit إلى L-Sorbose وهذه مرحلة وسطية مؤدية إلى تخليق فيتامين C.



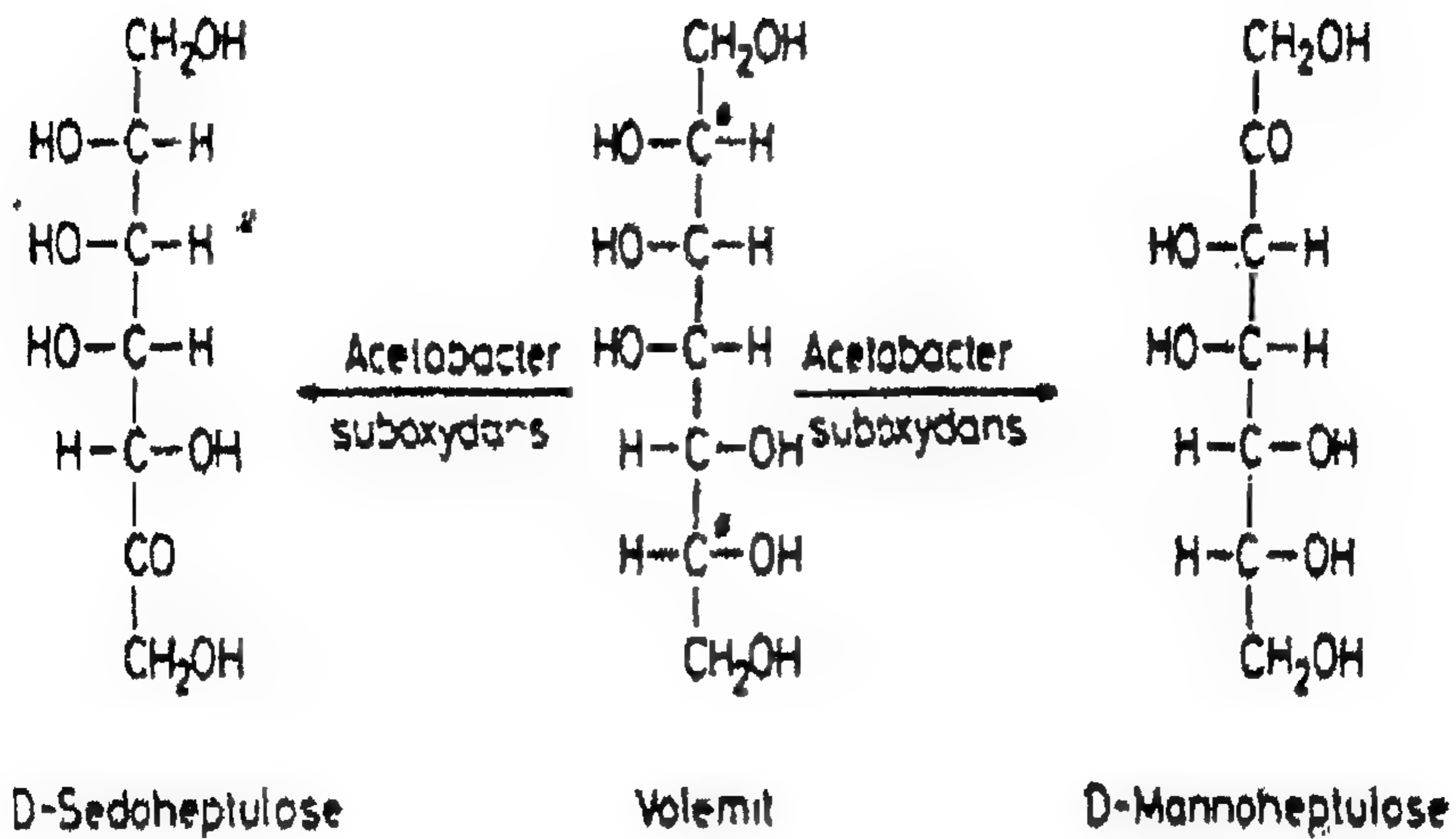
... (123-3)

تؤكسد البكتريا Acetobacter suboxydans أيضا مركبات أخرى مثل Polyol إذا احتوى التركيب الآتي:



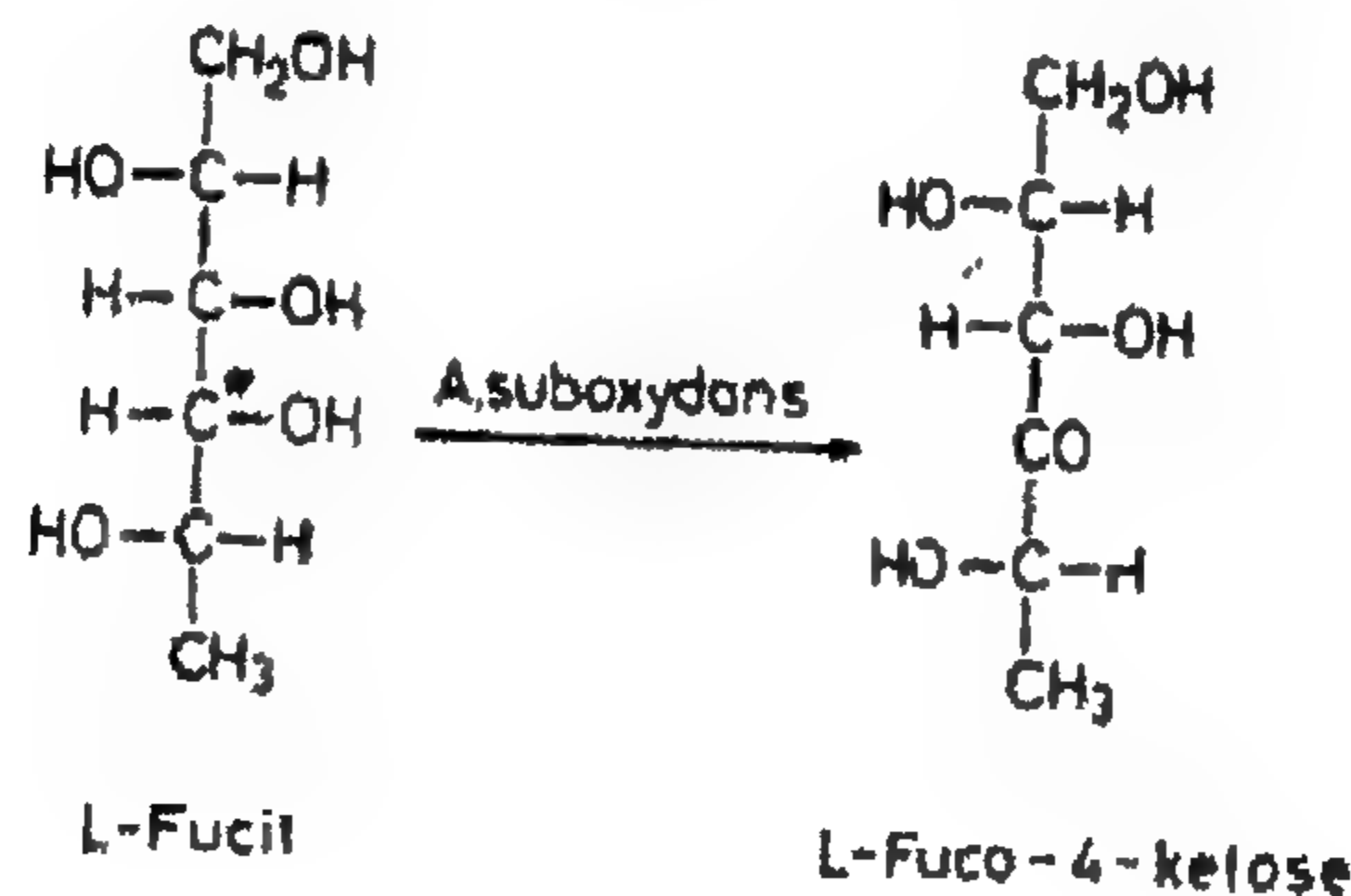
يتأكسد المركب Polyol في ذرة الكربون الموسومة (❖) بواسطة البكتريا المذكورة ويتحول بذلك إلى كيتوز معين من الشروط الواجب توفرها في ال Polyol ليكون ركيزة Substrate أن يحتوي على مجموعتي هيدروكسيل ثانويتين في حالة Cis ومجاورتين لمجموعة هيدروكسيل أولية حسب قاعدة بير تراند- هدرسون (Bertrands Hudson rule)

ولإثبات قاعدة Hudson بذكر المثال الآتي:



(124-3) ...

يطابق المركب Volemit قاعدة هديسون في نقطتين (❖) وبذلك يتكون ناتجان مختلفان نتيجة أكسدة هذا المركب بواسطة البكتريا Acetobacter suboxydans ويمكن عزل المركبين الناتجين عن بعضهما عمليا وهما D- Monnoheptulose D- sedoheptulose يمكن أن تشمل قاعدة هديسون إلى حد ما أكسدة المركب W-Deoxy- sugar فمثلا يؤكسد L-Fucit إلى L-Fuco-4- ketose بواسطة البكتريا المذكورة أعلاه.



(125-3) ...

في هذه الحالة والحالات المشابهة يجب النظر إلى المجاميع $\text{CH}_3\text{-CHOH}$ وكأنها امتداد للمجاميع CH_2OH ، ومع هذا فهناك أمثلة أخرى معروفة عن سكريات مثيلية لا يمكن أكسدتها حتى لو انطبقت عليها قاعدة بيرتراند هيدسون.

يوجد الأنزيم *Polyol dehydrogenase* أيضا في أحياء مجهرية أخرى وحيث لا يطابق عمله قاعدة بيرتراند هيدسون. يوضح الجدول 3-9 تخصص الأنزيمات *Polyol dehydrogenase* ومصادرها وتركيب الركائز التي تعمل عليها.

جدول 3-9: تخصص الأنزيمات *Polyol dehydrogenase*

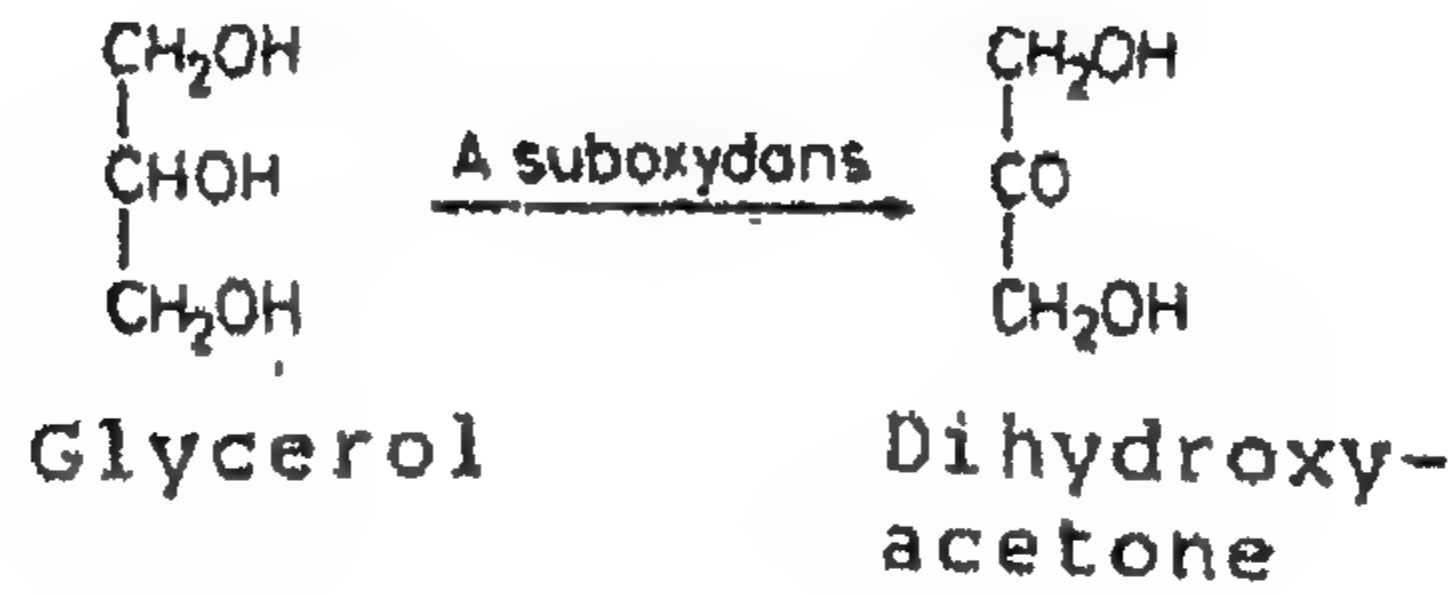
ومصادرها وتركيب الركائز التي تعمل عليها.

التركيب الالتزامي للكييزة	مصدر الانزيم	الصفات	التميم الانزيمي	الانزيم
CH_2OH = = CH_2OH	A suboxydans	pH - Opt. 5.5	cytochrome	D-mANNIT- Dehydrogenase (Bertrand- Hudson- Enzyme)
CH_2OH = = CH_2OH	A suboxydans	دائب	NAD^+	D-mANNIT- Dehydrogenase (Bertrand- Hudson- Enzyme)
CH_2OH = = CH_2OH	Azotobacter agilis	دائب pH - Opt. 7.8	NAD^+	D-mANNIT- Dehydrogenase (Bertrand- Hudson- Enzyme)

التركيب الالتزامي للمركبة	مصدر الانزيم	الصفات	التميم الانزيمي	الانزيم
CH_2OH $\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} \end{array}$ CH_2OH	Aerobacter aerogenes	ذائب	NADP^+	D- Arabitt- Dethydrogenase Bertad- Hudsen - Enzyme)
CH_2OH $\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} \end{array}$ CH_2OH	Aerobacter aerogenes	ذائب	NAD^+	D-Ribit- Dehydrogenase (Bertrand- Hudson- Enzyme)
CH_2OH $\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} \end{array}$ CH_2OH	Pseudomonas sp.	ذائب	NAD^+	D-mANNIT- Dehydrogenase
CH_2OH $\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} \end{array}$ CH_2OH	Pseudomonos sp.	ذائب	NAD^+	D-mANNIT- Dehydrogenase
CH_2OH $\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} \end{array}$ CH_2OH	Rattenleber Azotobacter	ذائب	NAD^+	L-Neft- Dehydrogenase

تأكسد الكلسيرول إلى ثنائي هيدروكسيل الاستون:

يمثل تأكسد الكلسيرول إلى ثنائي هيدروكسيل الاستون تفاعلاً آخر مهماً في تكنولوجيا الغذاء ويتم بواسطة بكتيريا حامض الخليك أيضاً ويستخدم الناتج للمصابين بداء السكر. لا تطابق الأكسدة في هذا التفاعل قاعدة همدسون ويحصل التفاعل بوجود أنزيم مختلف عما ذكر في الجدول (3-9)



... (3-126)

يمكن أن يتكون ثنائي هيدروكسيل الاستون نتيجة للأكسدة المباشرة للكلسيرول التي تتم في pH مثالية تعادل (6)، وفي غياب نيوكليوتيد البريديين والفسفات اللاعضوية P_i . ومن جهة أخرى يتكون ثنائي هيدروكسيل الاستون في الرقم الهيدروجيني 8.5 أيضاً وبوجود ATP وأيونات Mg^{+2} ويحصل هذا بتحول الكلسيرول أولاً إلى كلسيرول -1- فوسفات ويتأكسد الأخير بوجود NAD-specific dehydrogenase إلى فوسفات ثنائي هيدروكسيل الاستون. تثبط أكسدة الكلسيرول إلى ثنائي هيدروكسيل الاستون بوجود 2.4-Dinitrophenol وهذا المركب يؤدي إلى فصل الفسفرة عن السلسلة التنفسية وبذلك لا يتكون ATP. يثبط هذا المركب كذلك أكسدة ثنائي هيدروكسيل الاستون في مراحل تالية من دورة فوسفات البنترول.

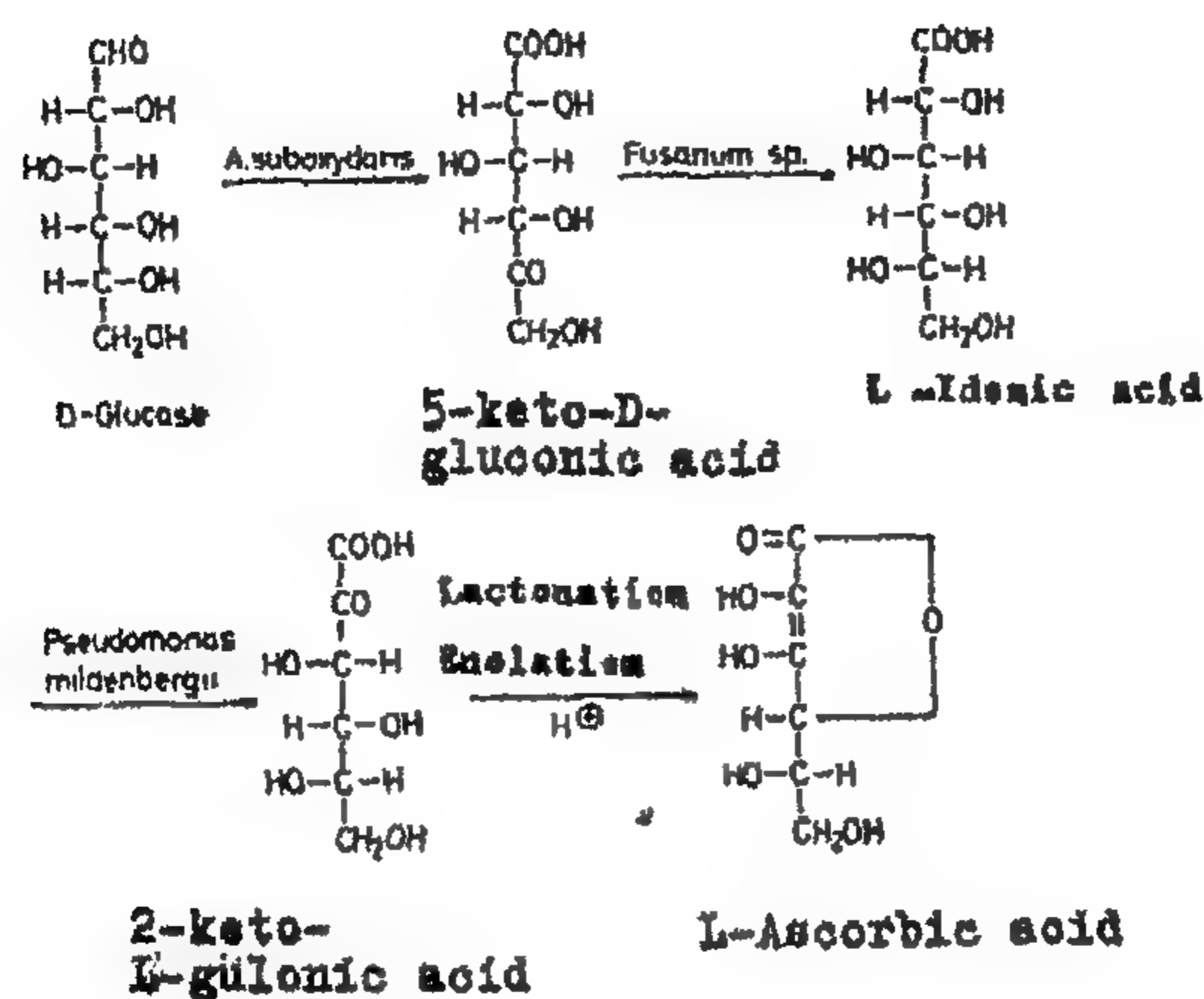
أكسدة الكلوكوز إلى حامض الكلوكونك؛

إن أكسدة السكريات المختزلة من قبل أنواع جنس البكتريا Acetobacter أو من قبل أحياء مجهرية أخرى، مهم جداً في تكنولوجيا الأغذية كتحويل الكلوكوز إلى حامض الكلوكونك الذي ذكر سابقاً (انظر فعل الأنزيم Glucose oxidase في الفصل الأول). تستعمل في الصناعة أنواع من جنس البكتريا Acetobacter ويفضل استخدام *Aspergillus niger* في التكنولوجيا.

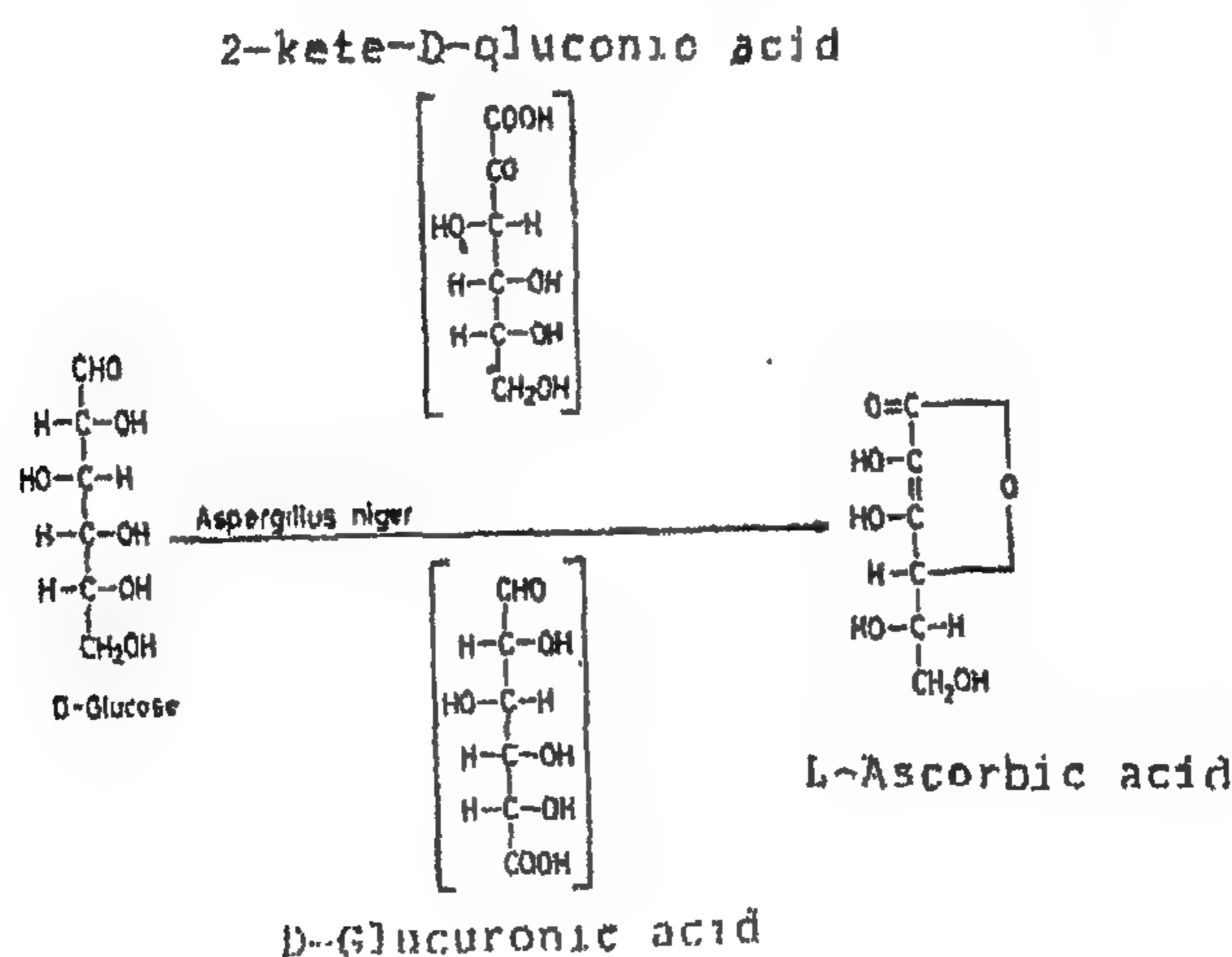
أكسدة الكلوكوز إلى 5. keto-D- gluconic acid

تتم هذه الأكسدة في البكتريا *A. suboxydans* وتعد مهمة جداً على أنها خطوة أولية في تخليق حامض الإسكوريك L-Ascorbic acid بطريقة الإختمار. وفي الخطوة الثانية يختزل keto-D-gluconic acid-5 بواسطة نوع مختار من جنس ال *Fusarium* إلى L-Idonic acid - يتأكسد المركب الأخير إلى keto-L-gulonic acid-2 بواسطة *pseudomonas mildenbergli* وهذا المركب يتحول إلى حامض الإسكوريك عند جعل المحيط حامضياً (شكل 3-40).

ولا يستبعد تخليق حامض الإسكوريك بخطوة تخميرية واحدة فقط من الكلوكوز باستعمال سلاسلات مختارة من *Aspergillus niger*.

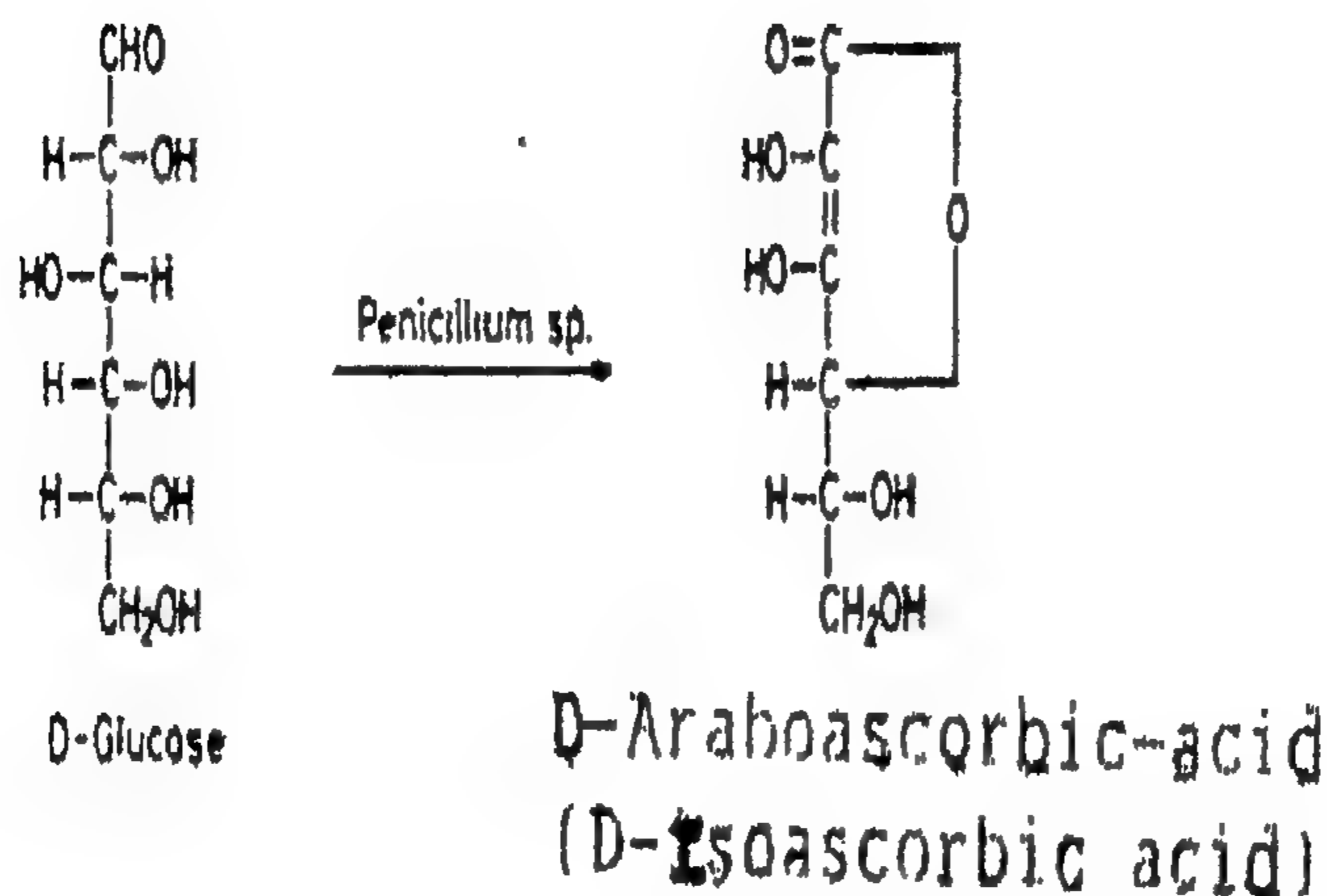


شكل (3-40) تكوين حامض الأسكوربيك من الكلوكوز بواسطة الأحياء المجهرية. يمكن لبعض السلالات المختارة من *A. niger* والمنتجة لحامض الستريك، بناء كميات قليلة من حامض الإسكوربيك في أوساط زرعية معينة وفي هذه الحالة يمثل تكوين المركب 2-ketogluconic acid أو Gluconic acid خطوة سابقة لتكوين حامض الإسكوربيك وكما يأتي:



(127-3) ...

يمكن لبعض الأنواع المختارة من جنس *Penicillium* تخليق حامض D-Isoas- Cerbic acid من سكر الكلوكوز ويمكن إنتاج الحامض بنسبة 40% من السكر المستعمل



... (128-3)

يملك D-Araboascorbic acid عادة $\frac{1}{20}$ من فعالية فيتامين C التي يمتلكها L-Ascorbic. ويستخدم D-Araboascorbic مانعاً للأكسدة ويعد مهماً في معامل تصنيع الأغذية.

2-3 المصادر المعتمدة

1. Rehm, H.J. Industrielle Mikrobiologie. Springer Berlin-Heidelberg-New York, 1967.
2. Rudy, H. Fruchtsaeren wissenschaft und Technik, Alfred Huethig Verlag, Heidelberg. 1967
3. Shelgel, H.G. Allgemeine Mikrobiologie, Thieme, Stuttgart, 1969.
4. Gray, C.J. Enzyme. Catalysed reactions. Van Nestrand Reinhold comp. London, 1971.
5. Karlson, p. Biochemie. Georg thieme Velag stgt 1972.
6. Lloyd, D. The Mitechendria of Microorganisms, Academic press. London New York. 1974.
7. Cunningham, E.B. Biochemistry, Mechanism of Metabolism, Mcgrow-Hill Book Company, 1978
8. Bruchmann. E-E. Angewante Biochemie Velag Eugen ulmer stuttgrat, 1979.
9. Heimann, W. Fundamentals of Food Chemistry. Ellis Horwood Publishers. 1980.
10. Belitz. H. D. of Grosch. W. Lehrbuch des Lebensmittelchemie Zweite Auflage. Springer Verlag. 1985

11. Rassam M.B. & Dawood, N.S. Purification and properties of cytochrome C^{ss} from *Leishmania donovani*. Molecular and Biochemical Parasitology, 21.1-6, 1986.
12. Rassam, M.E. Shanshal, M. & Gargess, G.S. Isolation and Identification of coenzyme Q from *Leishmania donovani*. Molecular and Biochemical Parasitology, 29.61-64, 1988.

الفصل الرابع

الشحوم Lipids

الفصل الرابع

الشحوم Lipids

1-4 المقدمة

تمثل الشحوم مجموعة غير متجانسة بوصفها مركبات كيميائية تجمعها خاصية عدم الذوبان في الماء نظراً لطبيعتها الهيدروفوبية Heydrophobic فيما تكون قابلة للذوبان في المذيبات غير القطبية كالأثير والكلوروفورم والبنزين. ويمكن تصنيف الشحوم إلى

1. أستلات الكلسيرول Acyl glycerels
2. الشموع Waxes
3. الشحوم الفسفاتية Phospholipids
4. الشحوم السفنكولية Sphingolipids
5. الشحوم السكرية Glycolipids
6. الكيلات كلسيريدات الإيثرات Alkyl glycerly ethers
7. الشحوم التربينية Terpenoid lipids وتضم الكاروتينويدات والسترويدات وتنتشر جميع هذه الأصناف في الطبيعة.

2-4 الحوامض الدهنية

تقترن معظم الشحوم بحوامض دهنية وهي حوامض كربوكسيلية تحتوي على عدد مزدوج لذرات الكربون يتراوح بين 4 و30 ذرة وتكون عادة في سلسلة مستقيمة. تكون الحوامض الدهنية ذات المصدر الحيواني مستقيمة السلسلة

وتتكون من 16-22 ذرة كربون وقد تكون مشبعة أو حاوية على عدد من الأواصر المزدوجة يتراوح بين 1 و6.

أما الحوامض الدهنية الموجودة في البكتيريا فهي أكثر اختلافاً في التركيب عما هو موجود في الحيوانات. فقد تكون مشبعة أو حاوية على أصرة مزدوجة واحدة وقد تكون متشعبة السلسلة وفي بعض الأحيان قد تدخل حلقة البروبان الحلقي Cyclopropane في تركيبها كما في الحامض لاكتوباسليك Lactobacillic.

وتكون الحوامض الدهنية النباتية أكثر تنوعاً وقد تحوي أواصر استيلينية أو مجاميع ايبوكسي Epoxy أو هيدروكسي أو كيتو أو بروتين حلقي cyclopropene أو بينتين حلقي Cyclopentene

ويوضح الجدول (1-4) تركيبات الحوامض الدهنية الشائعة.

جدول (1-4) تركيبات الحوامض الدهنية الشائعة

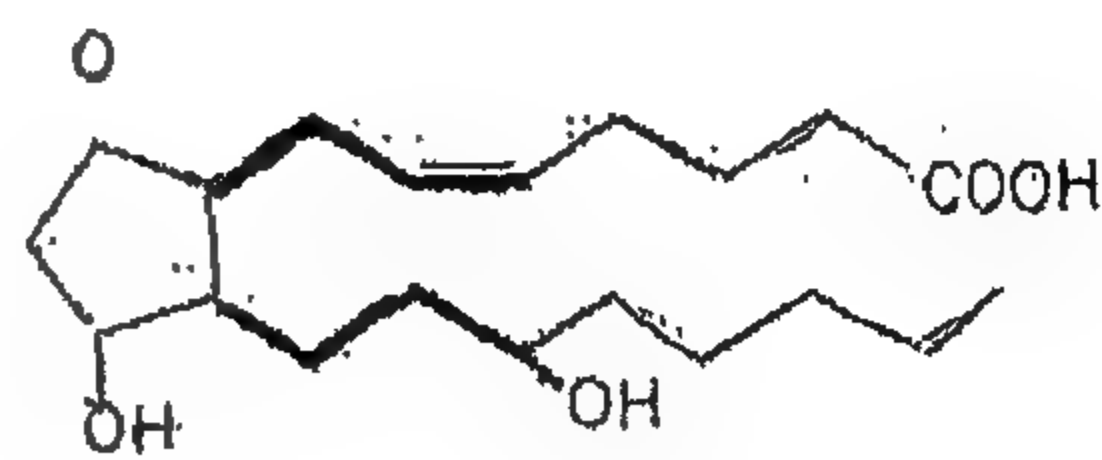
درجة الانصهار	التركيب	الحامض
		Saturated fatty acids
16	CH_3COOH	Acetic acid حامض الخليك
22-	$\text{CH}_3 \text{CH}_2\text{COOH}$	Propionic acid حامض البروبيونك
7.9-	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	Butyric acid حامض البيوتريك
3.4-	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	Capronic acid حامض الكبروك
32	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_8\text{COOH}$	Decanoic acid حامض الديكانوك
44	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{10} \text{COOH}$	Lauric acid حامض اللورك
54	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{12} \text{COOH}$	Myristic acid حامض المرستك
63	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	Palmitic acid حامض البالميك
70	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	Stearic acid حامض السيتارك
75	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	Arachidic acid حامض الاراكوك
درجة الانصهار (م)	التركيب	الحامض

تابع الجدول ٤ - ١

الحمض	التركيب	درجة الانصهار (م)
Behenic acid حامض البهنك	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	-80
Lignoceric acid حامض اللكنوسرك	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	-84
<u>Monoenoic fatty acids</u>		
الحموض الدهنية احادي الأصرة المزدوجة		
Oleic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7 \overset{\text{cis}}{\text{CH}} = \text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	-13
cis - Vaccenic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5 \overset{\text{cis}}{\text{CH}} = \text{CH}(\text{CH}_2)_9\text{COOH}$	-44
الحموض الدهنية ثنائية الأصرة المزدوجة		
<u>Dienoic fatty acid</u>		
Linoleic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4 \overset{\text{cis}}{\text{CH}} = \text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	-5
الحموض الدهنية ثلاثية الأصرة المزدوجة		
<u>Trienoic fatty acids</u>		
α - Linolenic acid	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\overset{\text{cis}}{\text{CH}} = \text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	-10
الحموض الدهنية رباعية الأصرة المزدوجة		
<u>Tetraenoic fatty acid</u>		
Arachidonic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4 \overset{\text{cis}}{\text{CH}} = \text{CHCH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	-50
<u>الحموض الدهنية غير الشائعة</u>		
<u>Unusual fatty acids</u>		
α -Elaeostearic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3 \overset{\text{trans}}{\text{CH}} = \text{CH} \overset{\text{trans}}{\text{CH}} = \text{CH} \overset{\text{cis}}{\text{CH}} = \text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ (conjugated)	48
Tartronic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{C} \equiv \text{C}(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	51
Isanic acid	$\text{CH}_2 = \text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{C} \equiv \text{C} - \text{C} \equiv \text{C}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	39
Lactobacillic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	28
Verriolic acid	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{CH} = \text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	-

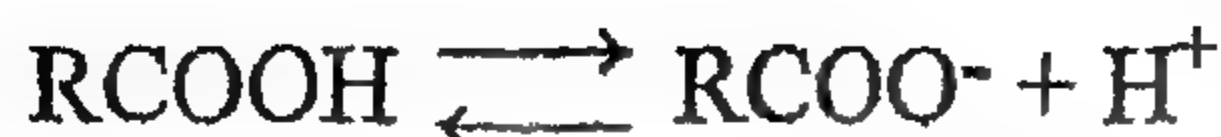
البروستغلاندينات

Prostaglandin (PGE₂)



4-2-1 الخواص الفيزيائية

تتأين الحوامض الدهنية الحرة في الماء:



$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{RCOO}^-]}{[\text{RCOOH}]}$$

وإذ أن $\text{pka} = -\log k_a$ فإن قوة الحامض تحدد بتأينه، وتكون pka لمعظم الحوامض الدهنية في المدى 4.76-5.0. وتمتلك الحوامض القوية قيم pka أعلى.

ونظراً لأن جزيئات الحوامض الدهنية تتكون من جزء كاره للماء Hydrophobic هو السلسلة الهيدروكربونية وآخر محب للماء (هيدروفيلي) وهو المجموعة الكربوكسيلية، تسمى هذه الجزيئات أمفيباتية Amphipathic وتميل الأجزاء الأمفيباتية إلى التأثير مع بعضها فيما تتأثر الأجزاء الهيدروفيلية مع المحيط المائي ونتيجة لهذه الصفات تميل الحوامض الدهنية إلى التجمع بأسلوب معين لكتوين مذيلات Micelles، وسوف نتطرق إلى أهميتها فيما بعد. وتعكس الحوامض الأخرى للحوامض الدهنية طبيعة سلاسلها الهيدروكربونية وتكون الحوامض الدهنية الحاوية على ما لا يزيد على 8 ذرات كربون في السلسلة الهيدروكربونية سائلة فيما تكون الحوامض المشبعة الحاوية على عدد أكبر من ذرات الكربون صلبة؛ يمتلك حامض السيتارك $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7$ درجة انصهار 70°C ، وعند إدخال أصرة مزدوجة كما في حامض الأوليك

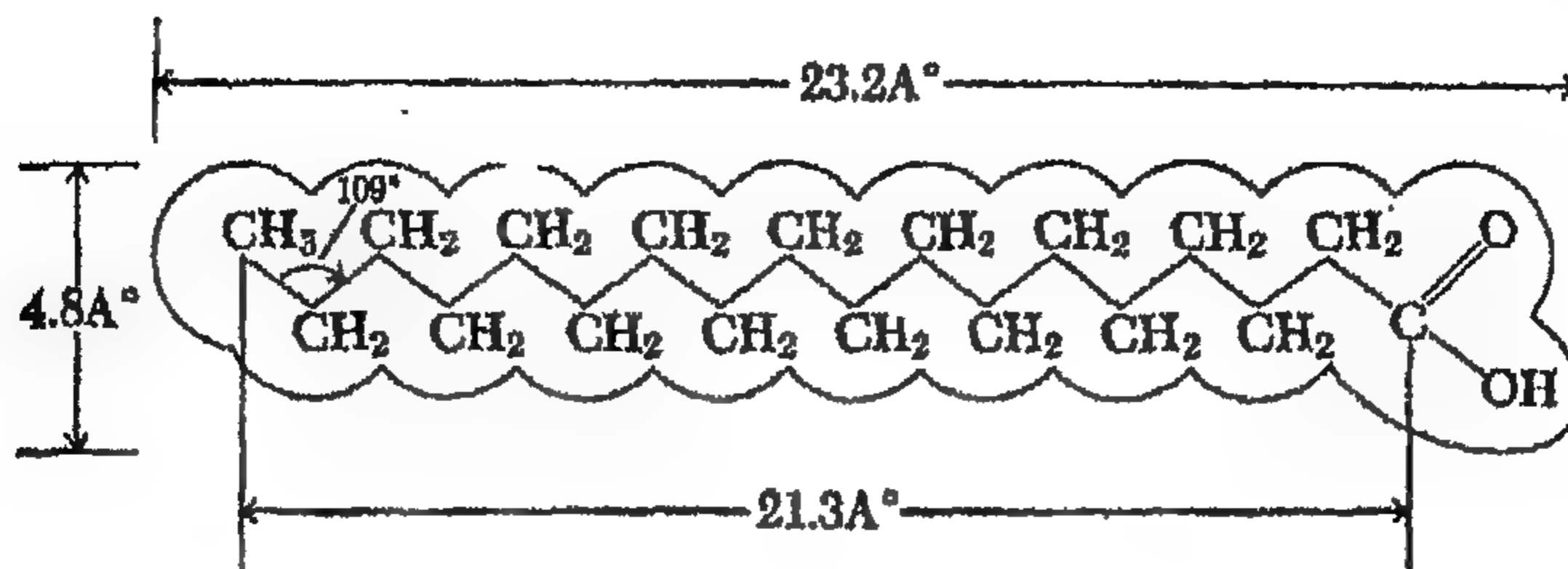


كما أن إدخال عدد أكبر من الأواصر المزدوجة يقلل درجة الانصهار إلى اوطأ من ذلك.

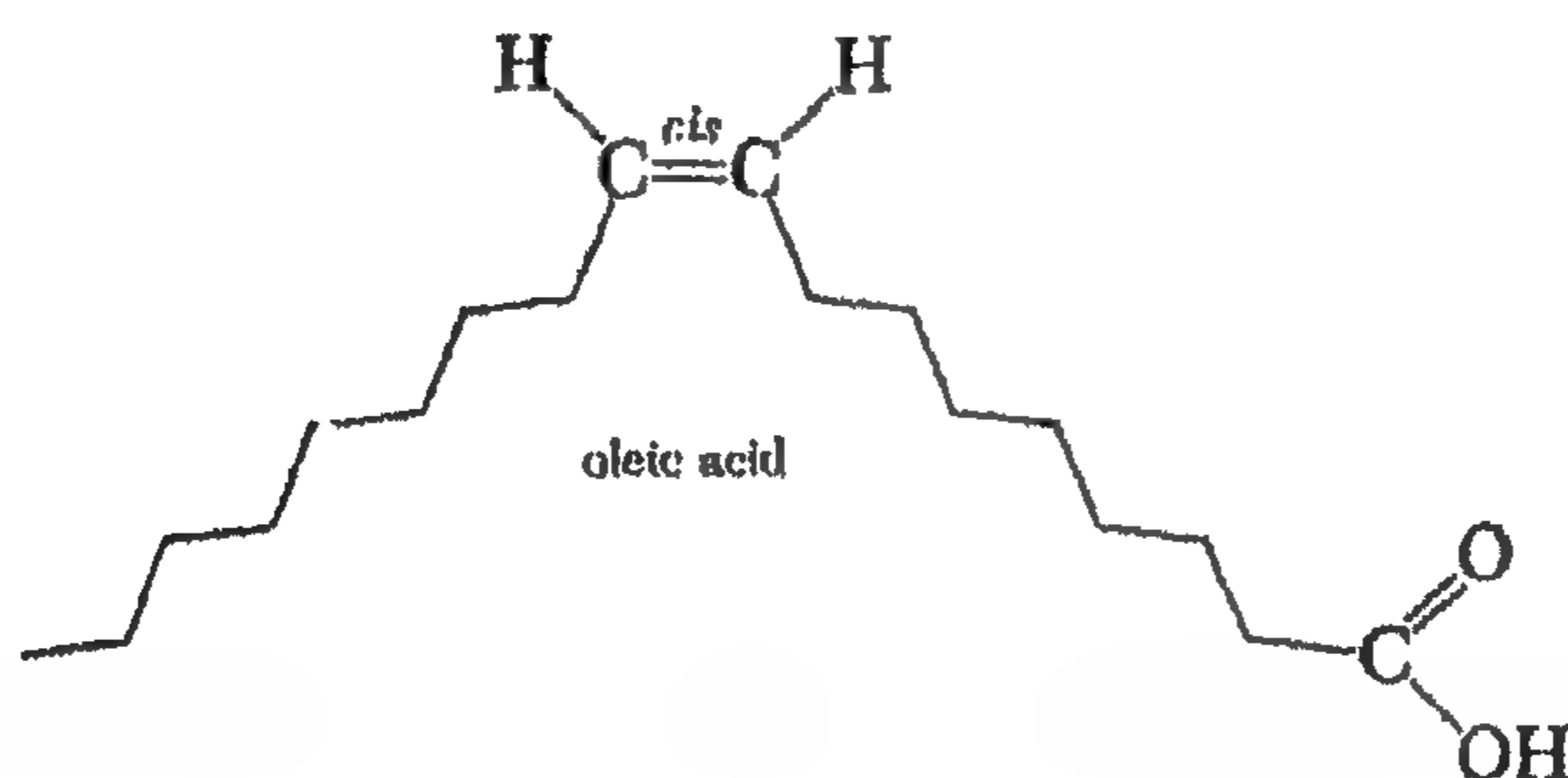
تكون معظم الحوامض الدهنية غير المشبعة الموجودة في الطبيعة بصيغة

المقرون Cis الأقل ثباتاً من صيغة المفروق Trans.

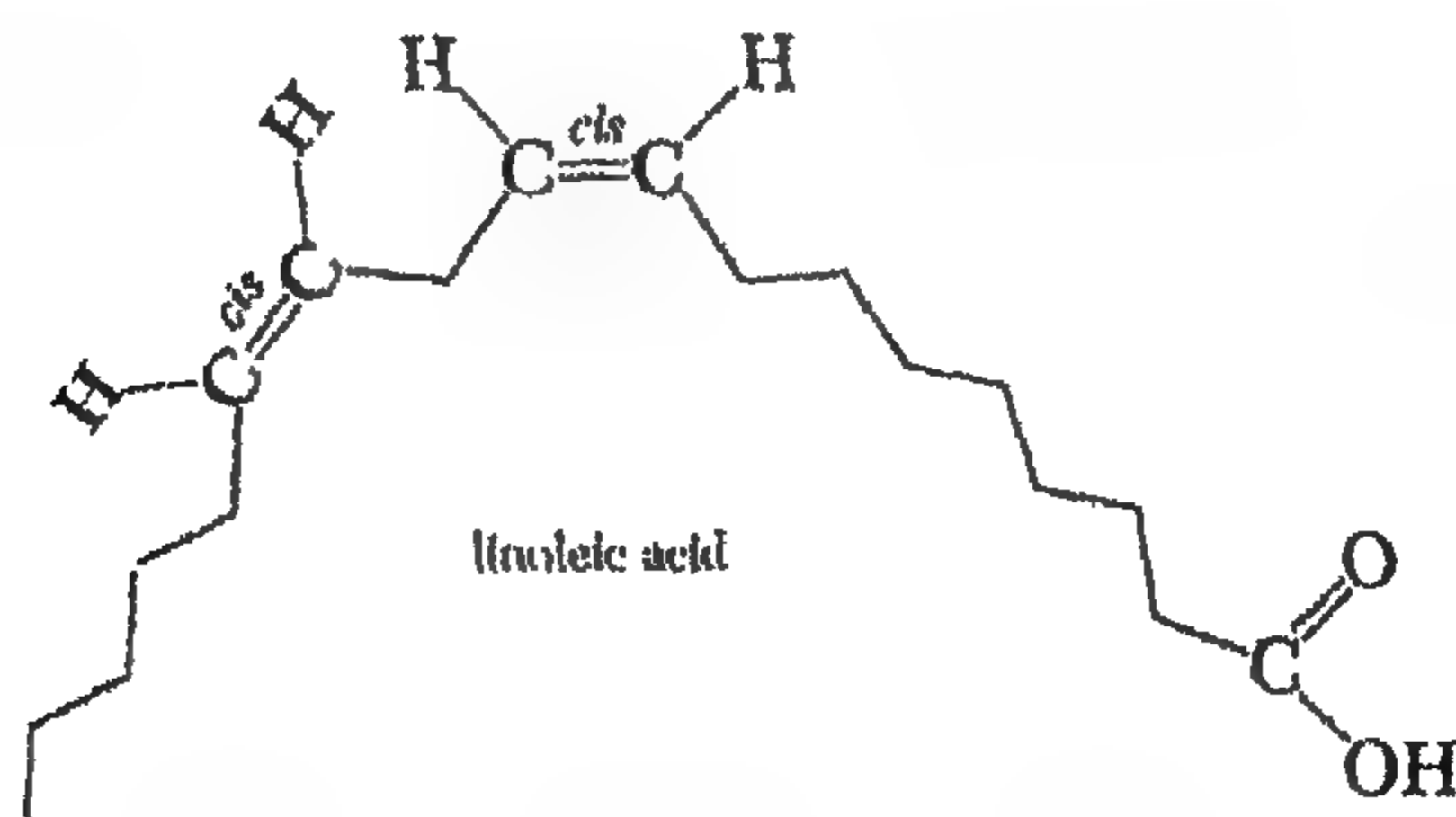
تمتلك السلسلة الهيدروكربونية للحامض الدهني شكل خط متعرج Zigzag وتشكل اواصر كاربون-كاربون زاوية 109° م.



وعند وجود آصرة مزدوجة من نوع Cis في الموقع 9-10 كما في حامض الأوليك، تتخذ الجزيئة الشكل الموضح أدناه إذ أن الآصرة المزدوجة تؤدي إلى انحناء الجزيئة.



ويكون الانحناء أكثر في حالة وجود آصرتين مزدوجتين كما في حامض اللينوليك ومن الجدير



بالذكر انتشار الحوامض الدهنية الحاوية على أكثر من آصرة مزدوجة في أغشية الخلايا الحيوانية والنباتية فيما لا تحتوي البكتريا على حوامض دهنية عديدة الأواصر المزدوجة ، ويكون الحامض الدهني الرئيسي غير المشبع في البكتريا هو حامض فاكسنك Vaccenic



إضافة إلى ما تقدم، تكون الأواصر المزدوجة غير متبادلة nonconjugated في الحوامض الدهنية المنتشرة في الطبيعة وكمثال حامض اللنوليك حيث تفصل مجموعة مثيلين بين الأواصر المزدوجة:



إلا أن الحامض الدهني المهم صناعيا α -Elaeosteraic الذي يشكل الحامض الرئيس في زيت التانغ Tung oil يمثل زمير لحامض الفا- لنولنيك ويختلف عنه باحتوائه على نظام ثلاثي الأواصر المزدوجة المتبادلة:

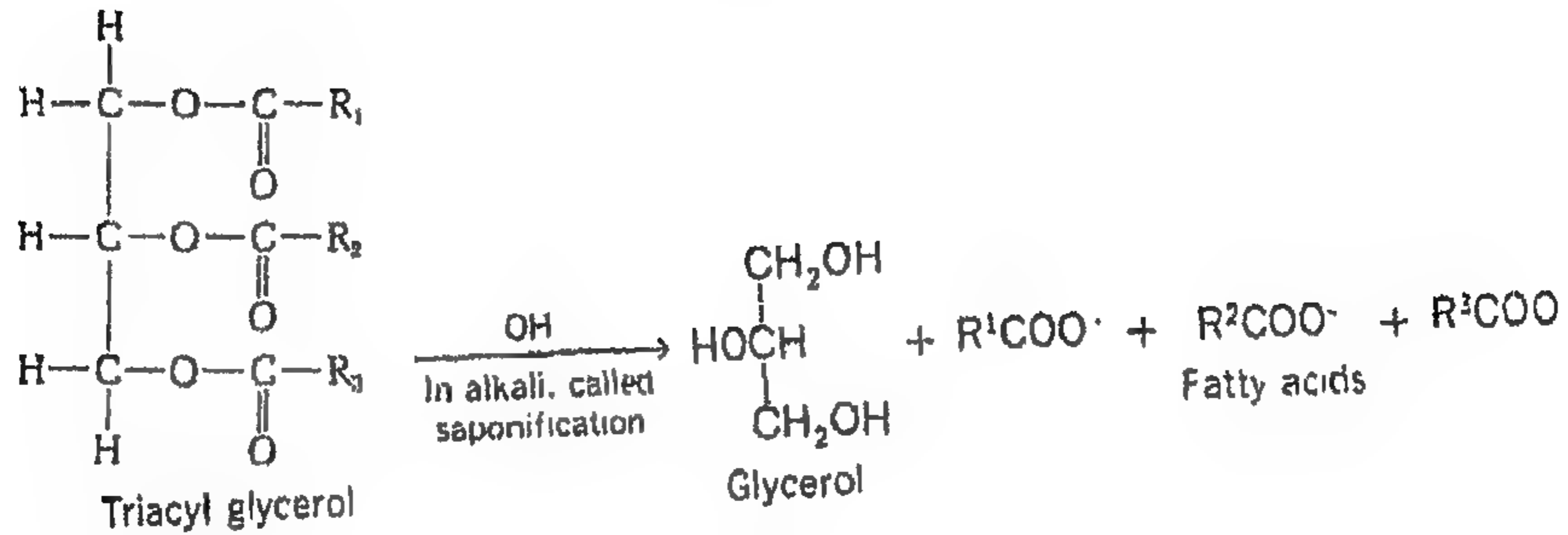


ويكون الحامض أكثر فعالية من زميره الفا- لنولنيك بسبب تبادل الأواصر المزدوجة حيث يسهل بلمرته polymerization. وتستخدم هذه الخاصية في صناعة الأصباغ.

2-2-4 الخواص الكيميائية

تعكس الفعاليات الكيميائية للحوامض الدهنية فعالية مجموعة الكربوكسيل ودرجة عدم تشبع السلسلة الهيدروكربونية. ونظرا لكون الحوامض الدهنية سامة فإن وجودها بصورة حرة محدود جدا في الخلية. وتوجد هذه الحوامض عادة مرتبطة بشكل استرات في الشحوم المعقدة مثل ثلاثيات اسيل الكلسيرول والشحوم الفسفاتية.

تتحلل الأواصر الاستر مائياً بوجود حامض أو قاعدة ويختلف التحلل المائي بوجود الحامض عنه بوجود القاعدة بكون الأول عكوس والثاني غير عكوس والسبب يعود إلى أن الحامض الدهني الناتج عن التحلل المائي بوجود القاعدة يكون أنيون تام التأين ولا يميل للتفاعل مع مجموعة الهيدروكسيل:



حوامض دهنية كلسيرول ثلاثي أسيل الكلسيرول الكلسيرول

وتسمى عملية التحلل المائي بوجود قواعد قوية (صوبنة) حيث تتم العملية بوجود هيدروكسيل الصوديوم أو البوتاسيوم المركز الساخن وينتج عن ذلك ملح الفلز القلوي للحامض الدهني أي ما يسمى (الصابون) إضافة إلى الكلسيرول.

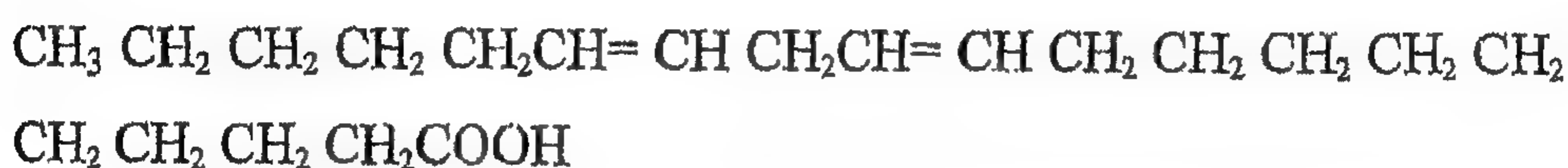
ويعرف رقم الصوبنة Saponification number بأنه عدد ملغرامات هيدروكسيد البوتاسيوم الضرورية لصوبنة غم واحد من الدهن أو الزيت ويتناسب عكسياً مع الوزن الجزيئي للدهن أو الزيت.

تعاني الحوامض الدهنية غير المشبعة تفاعلات إضافة ويعبر عن تفاعل الدهن أو الزيت مع اليود برقم اليود للنموذج ويعرف بأنه عدد غرامات اليود (I_2) التي ترتبط مع 100 غم من الدهن وبهذا يكون رقم اليود مقياساً لقلّة التشبع في النموذج ويزداد تبعاً لذلك.

3-2-4 التسمية Nomenclature

يمكن استخدام الرموز لوصف الحوامض الدهنية ، والقاعدة العامة هي كتابة عدد ذرات الكربون أولاً ثم عدد الأواصر المزدوجة واخيراً موقع أول ذرة كربون مرتبطة بالآصرة المزدوجة ابتداءً من مجموعة الكربوكسيل. وهكذا يكتب حامض البالميتك المشبع والمكون من 16 ذرة كربون 16:0 وحامض الأوليك 18:19 وحامض الأراكيدونك (5.8.11.14) 20:4 ويفترض بأن الزمير المقرون Cis مقصود بهذه الصيغة. أما إذا وجد الزمير المفروق trans فيكتب الحرف (t) بجوار موقع الآصرة المزدوجة المعنية والحرف (C) بجوار موقع الآصرة المزدوجة من نوع Cis وكمثال 18: 3 (6t, 9t, 12c).

وهناك أسلوب آخر لوصف الحوامض الدهنية عديدة الأواصر المزدوجة نسبة إلى مجموعة المثل الطرفية. وهكذا يعبر عن حامض اللنوليك: (2(9,12)18: أو 2(n-6)18: حيث تمثل n عدد ذرات الكربون في الجزيئة والرقم 6 يشير إلى أن أول آصرة مزدوجة تكون ذرة الكربون السادسة ابتداءً من مجموعة المثل الطرفية وأما الآصرة المزدوجة الثانية فتتبع قاعدة عدم تبادل الأواصر المزدوة من نوع Cis نسبة للآصرة الأولى وبذلك يكون 220(n-6): كما يأتي



ويمكن وصفه كذلك (2(11,14)20:

3-4 أسيلات الكليسيرول Acyl glycerols

تكون ثلاثيات اسيل الكليسيرول أكثر أسيلات الكليسيرول إنتشاراً وصيغتها العامة كالآتي:

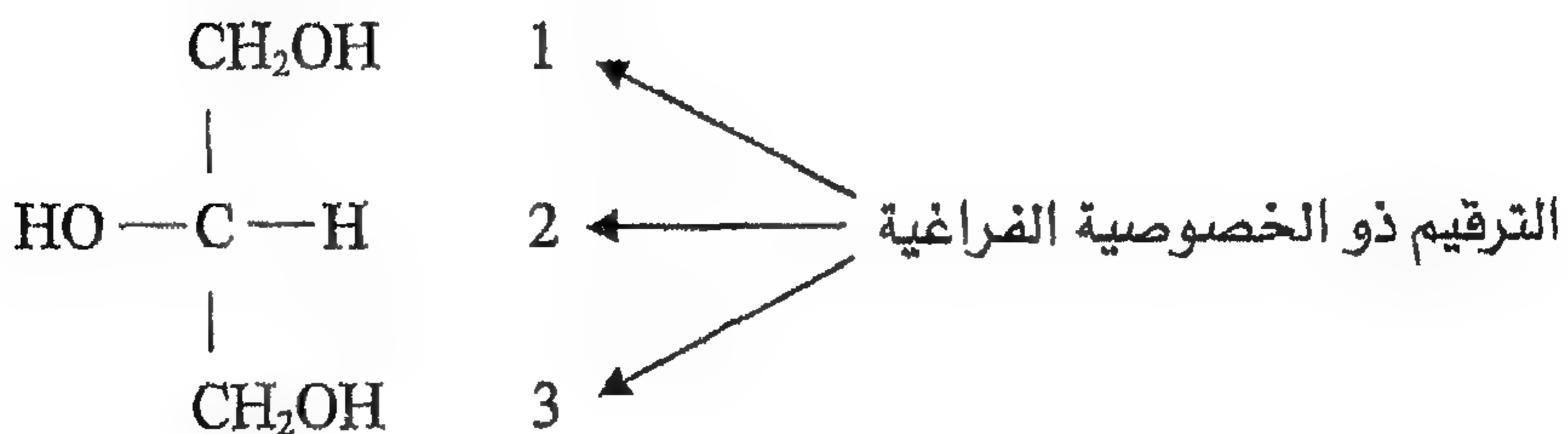
تسمية ذرات الكربون

CH_2OCR_1	1 أو α
R_2COOH	2 أو β
CH_2OCOR_3	3 أو α
Tracyl glycerol	

لا توجد ثنائيات وأحاديات اسيل الكلسيرول بكميات ملحوظة في الطبيعة إلا أنها تمثل مركبات وسطية مهمة في تفاعلات التخليق وتكون تراكيبيها كما يأتي:

$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OCOR}^1 \\ \\ \text{R}^2\text{COOCH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$ <p>1,2-D acyl glycerol</p>	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OCOR}^1 \\ \\ \text{HOCH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$ <p>1-Mono acyl glycerol</p>	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{RCOOCH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$ <p>2-Mono acyl glycerol</p>
١ ، ٢ - ثنائي أسيل الجلسيرول	١ - أحادي أسيل الجلسيرول	٣ - أحادي أسيل الجلسيرول

يلاحظ في أسلوب التسمية أعلاه ترقيم ذرات الكربون الكلسيرول 1، 2، 3، إن الأرقام 1 و 3 لا يمكن مبادلتها تبعاً لأسلوب التسمية المتبع من قبل هيئة الايوباك IUPAC-IUB حيث تكون مجموعة الهيدروكسيل على ذكرة الكربون الثانية للكلسيرول على يسار الصيغة التركيبية حسب تمثيل فشر للجزيئة وبذلك تكون ذرة الكربون العليا: C-1 والسفلى: C-3 ويطلق على نظام الترقيم هذا: الترقيم ذو الخصوصية الفراغية stereospecific.

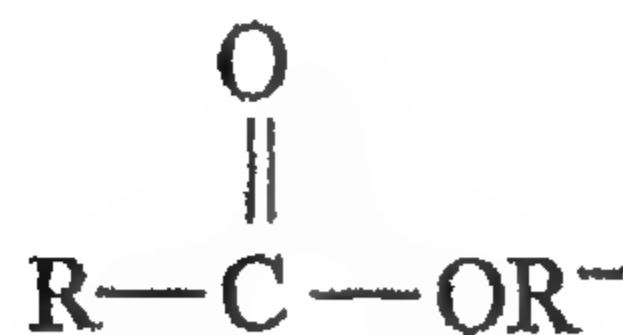


توجد ثلاثيات أسيل الكلسيروول بحالة صلبة أو سائلة اعتماداً على طبيعة الحوامض الدهنية الموجودة فيها. وتمتلك معظم ثلاثيات أسيل الكلسيروول الموجودة في النباتات درجات إنصهار واطئة وتكون سائلة في درجة حرارة الغرفة لاحتوائها على نسبة كبيرة من الحوامض الدهنية غير المشبعة وكمثال حوامض الأوليك واللينوليك واللينوليك. وعلى العكس تكون ثلاثيات أسيل الكلسيروول الموجودة في الحيوانات صلبة أو نصف صلبة ذات درجات إنصهار عالية نسبياً لاحتوائها على نسبة أعلى من الحوامض الدهنية المشبعة وكمثال حامض الستيارك وحامض البالمتك.

4-4 الشموع Waxes:

تنتشر الشموع في الطبيعة بوصفها طبقات واقية للفواكه ولأوراق النباتات كما تفرزها الحشرات كالنحل. وبصورة عامة تكون الشموع مزيجاً من الكانات Alkanes طويلة-السلسلة بعدد فردي لذرات الكربون يتراوح من C_{22} إلى C_{35} ومشتقات أوكسجينية وكمثال كحولات ثانوية وكيثونات. وحيث تكون الشموع عديمة الذوبان في الماء وغير حاوية على أواصر مزدوجة في سلاسلها الهيدروكربونية، نجدها خاملة كيميائياً. فهي تحمي سطوح أوراق النباتات من فقدان الماء والضرر. كما تلعب الشموع دوراً مهماً بوصفها حاجزاً في الحشرات والطيور. (في الريش) والحيوانات كالأغنام.

وهناك شموع تمثل إسترات الحوامض الدهنية طويلة السلسلة والكحولات الأولية طويلة السلسلة:

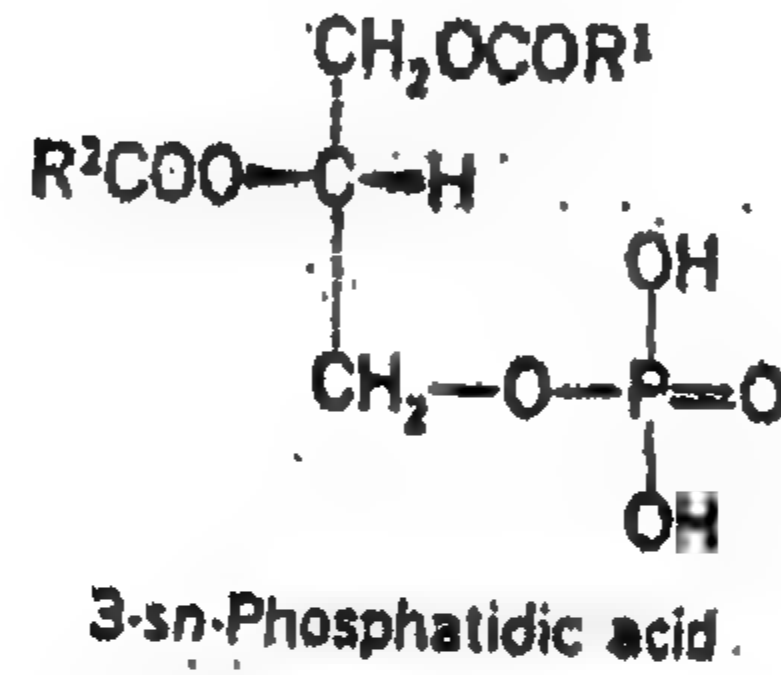


حيث تمتلك $17\text{R}-29$ ذرة كربون و $\text{R}-18-30$ ذرة كربون وتكون هذه الاسترات الشمعية ذات أهمية تجارية ملحوظة لأنها تستخدم في تزييت المكائن

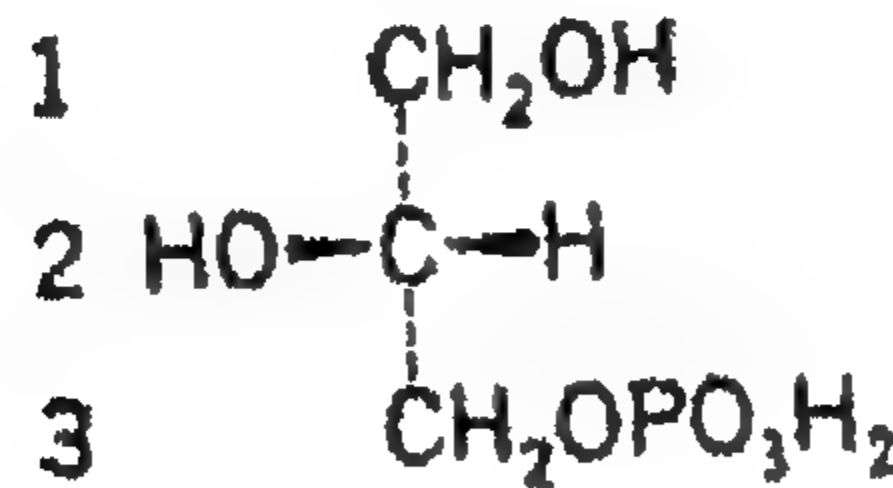
Machine lubricants ولقد إستخدم زيت الحيتان sperm whale لسنوات عديدة مصدراً رئيساً لهذه الشموع إلا أنه في السنوات الأخيرة وجد بديلاً قد يصبح مفضلاً وهو نبة تنمو في المناطق الصحراوية وتسمى Jojoba أو Simmondsia حيث تخلق كميات كبيرة من الاسترات الشمعية بمثابة شحوم تخزن في بذورها.

4-5 الشحوم الفسفاتية:

تحتوي هذه الشحوم على مجموعة فسفات إضافة إلى الكلسيرول والحوامض الدهنية وغالباً ما نجد قواعد نتروجينية في تركيبها. وتعد الشحوم الفسفاتية مشتقات لحامض الفسفاتيك:



لاحظ التسمية الحديثة 3-sn-phosphatidic acid للمركب أعلاه الذي يعد مشتقاً للمركب sn-glycerol-3-phosphoric acid والذي كان يسمى سابقاً L-3-Glycerophosphate.



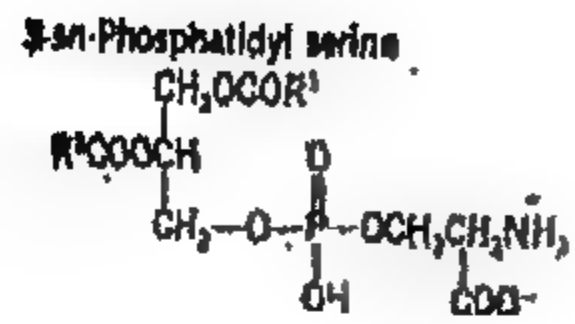
تنتشر الشحوم الفسفاتية في البكتريا والحيوانات والنباتات وتركيبها العام متشابه (جدول 2-4) بغض النظر عن مصدرها. وتقترن الشحوم الفسفاتية: فسفاتديل الايثانولامين وفسفاتديل السيرين وفسفاتديل الكولين بالأغشية الحيوية وتسمى مركبات إمفيباتية لامتلاكها جزءاً قطبياً وآخر غير

قطبي مما يسمح لها بالإقتران بالمحيط القطبي (محب لماء) وغير القطبي (كاراة الماء).

جدول 2-4 بعض الشحوم الامفيباتية

الشحم الصفائي	الحامض الدهني (الجزء غير القطبي)	القاعدة (الجزء القطبي)
<p>3-sn-Phosphatidyl choline CH_2OCOR^1 R^2COOCH $\text{CH}_2\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{O}^-)-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$</p> <p>ليستين</p>	<p>Stearic or palmitic (R^1) polyunsaturated (R^2)</p>	<p>Choline كولين</p>
	<p>(R^1) حامض الستريك أو البالنك (R^2) حامض دهني عديد الآصرة المزدوجة</p>	
<p>3-sn-Phosphatidyl aminoethanol CH_2OCOR^1 R^2COOCH $\text{CH}_2\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{O}^-)-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$</p> <p>سيفالين</p>	<p>Stearic or palmitic (R^1) polyunsaturated (R^2)</p>	<p>امينوايثانول</p>
<p>Cephalin</p>	<p>(R^1) حامض الستريك أو البالنك (R^2) حامض دهني عديد الآصرة المزدوجة</p>	

تابع الجدول ٤ - ٢

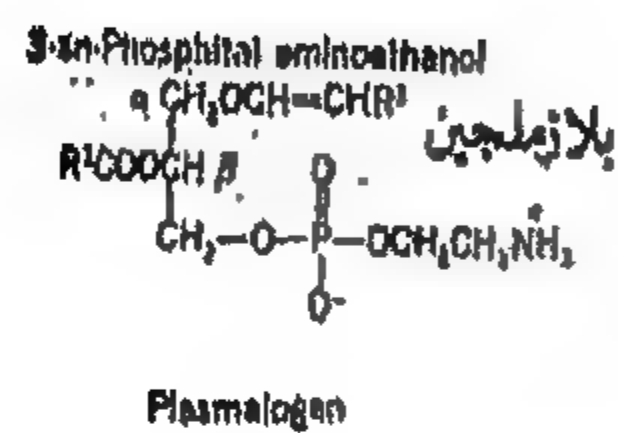


Stearic or palmitic (R¹)
polyunsaturated (R²)

(R¹) حامض استياريك أو بالميك
(R²) حامض عديدة الأصرة المزدوجة

Serine

سيرين

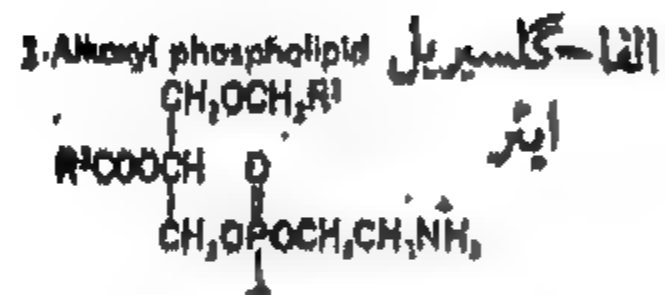


Unsaturated ether (a)
Linoleic (R)

(a) إثير غير مشبع
(b) حامض اللينوليك

Aminoethanol

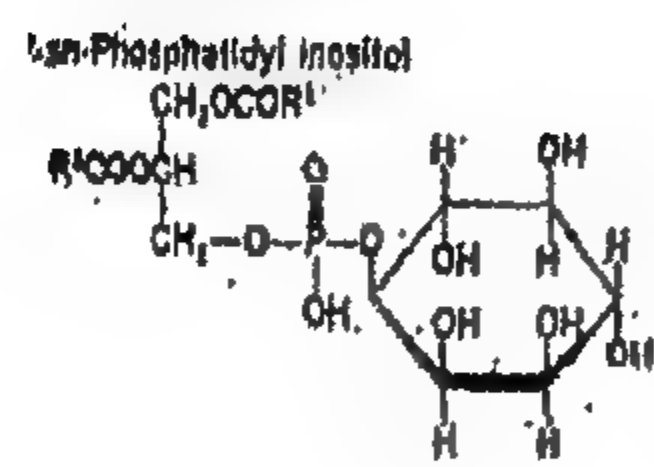
امينوإيثانول



R¹ probably an unsaturated
fatty acid

R¹ قد تكون حامض دهني غير مشبع

Aminoethanol

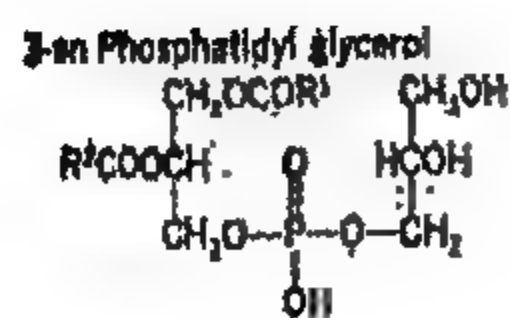


Palmitic (R¹)
Arachidonic (R²)

(R¹) حامض البالميك
(R²) حامض الاراكنونيك

Inositol replaces base

(مايوانوسيتول عوضا
عن القاعدة)



Polyunsaturated fatty acid
(R¹, R²)

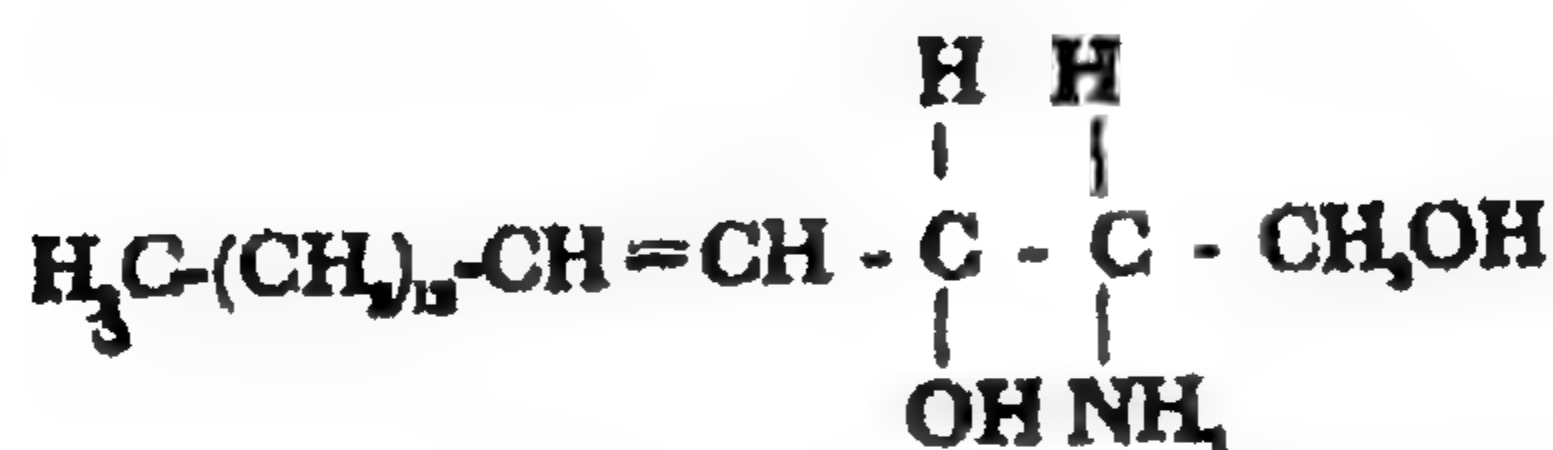
حامض دهني عديدة
الأصرة المزدوجة

Glycerol replaces base

الجلسرول عوضا
عن القاعدة

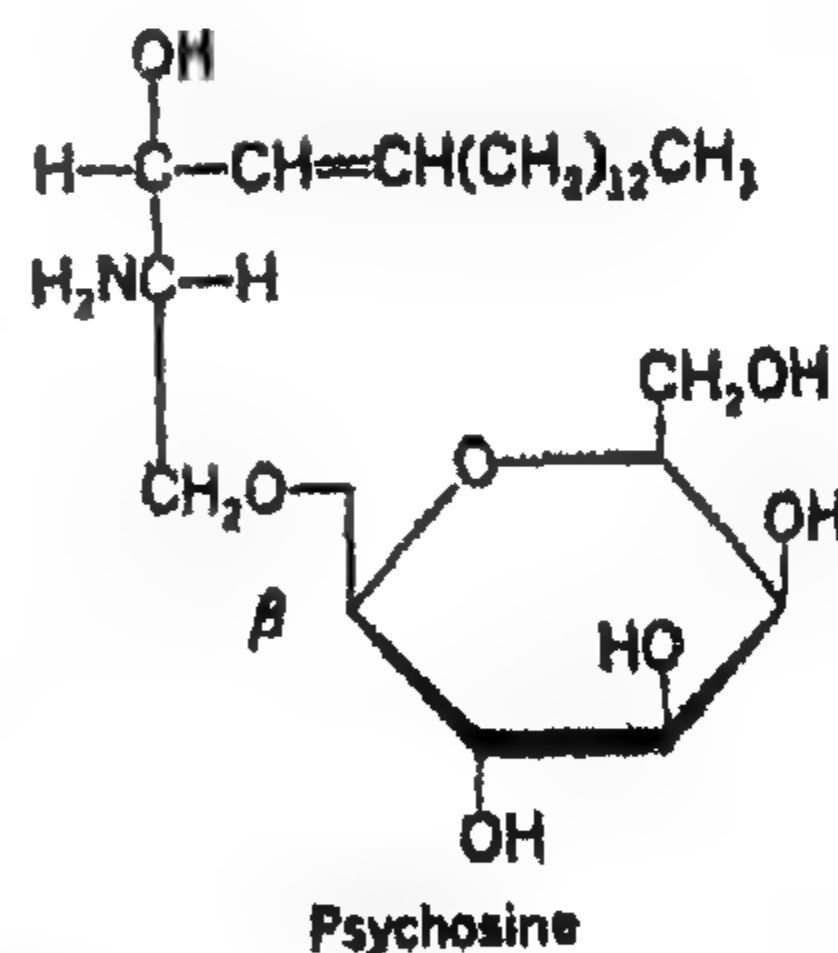
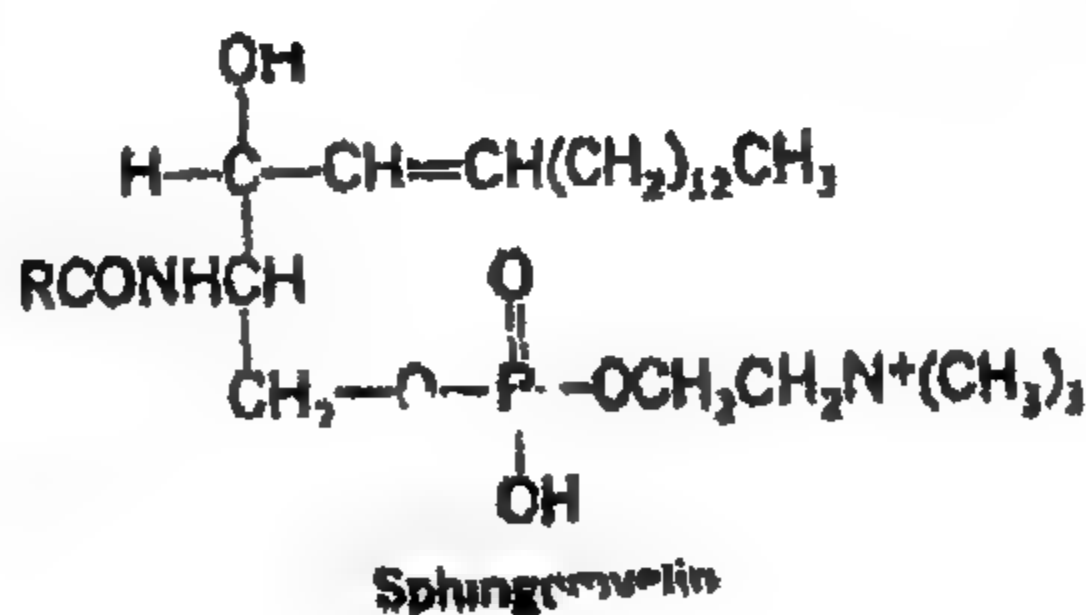
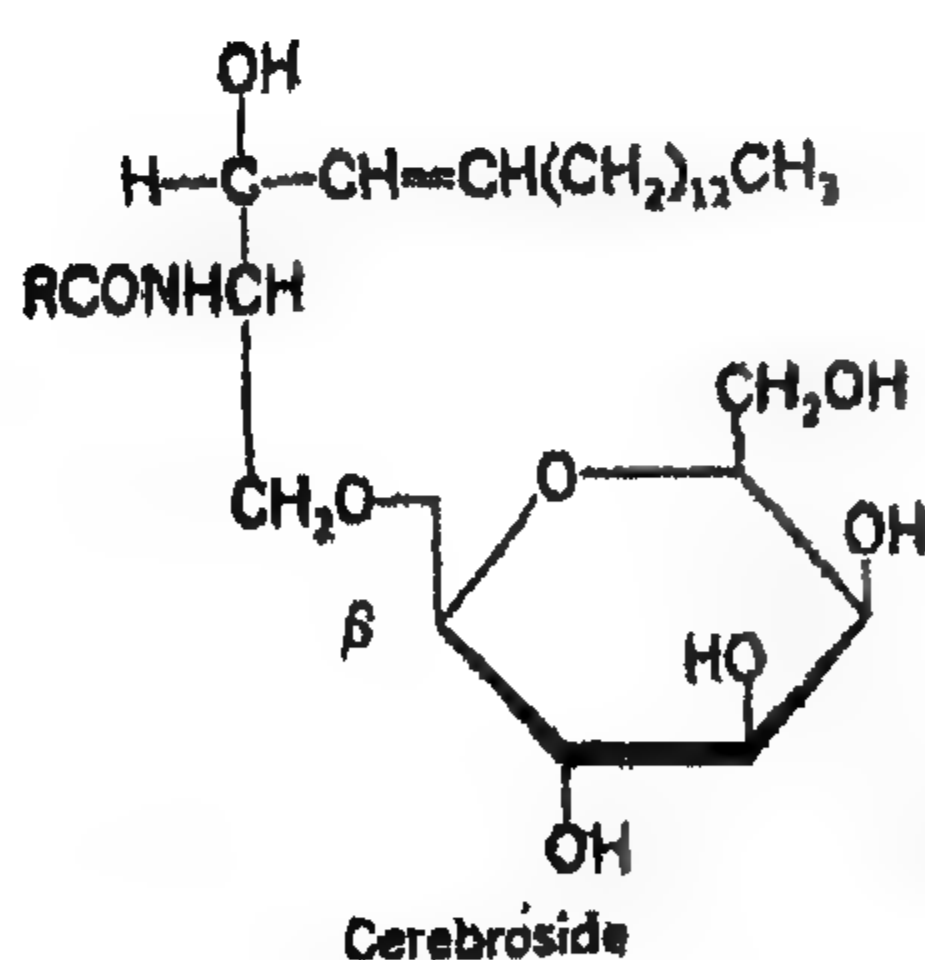
6-4 الشحوم السفنكولية Sphingolipids

تضم الشحوم السفنكولية مركبات مهمة تقترب بالأغشية الحيوانية وخاصة النسيج العصبي، ويسمى المركب المركزي 4- سفنجين Sphingene وكان يدعى سابقاً Sphingenine. ويتكون سلسلة معقدة من التفاعلات المشتمة على السرين و -palmityl-CoA.



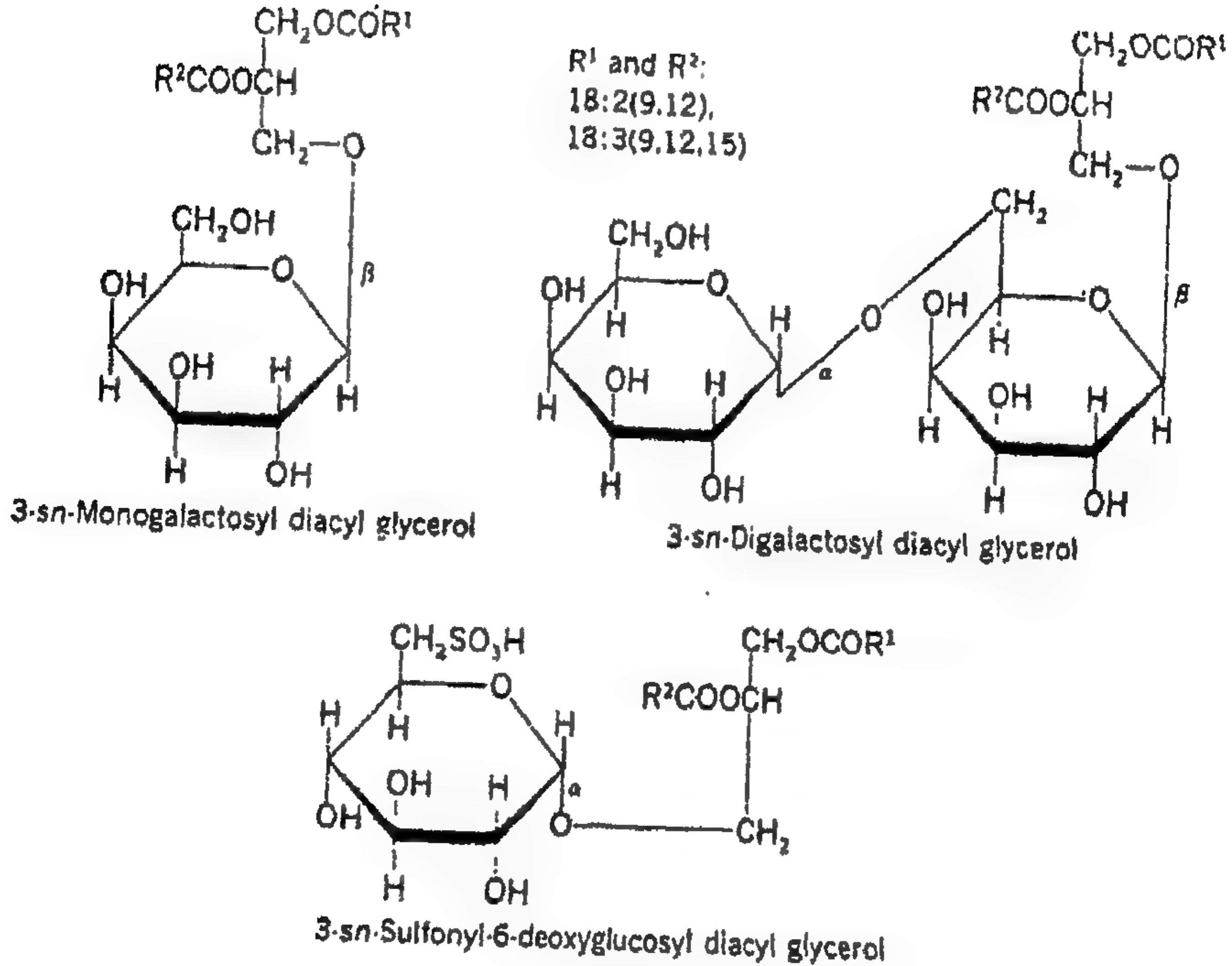
4-Sphingene

ويمكن لمكونات مختلفة الارتباط بهذا المركب لإعطاء مشتقات مهمة. وتمثل المركبات أدناه بعض هذه المشتقات.



7-4 الشحوم السكرية Glycolipids

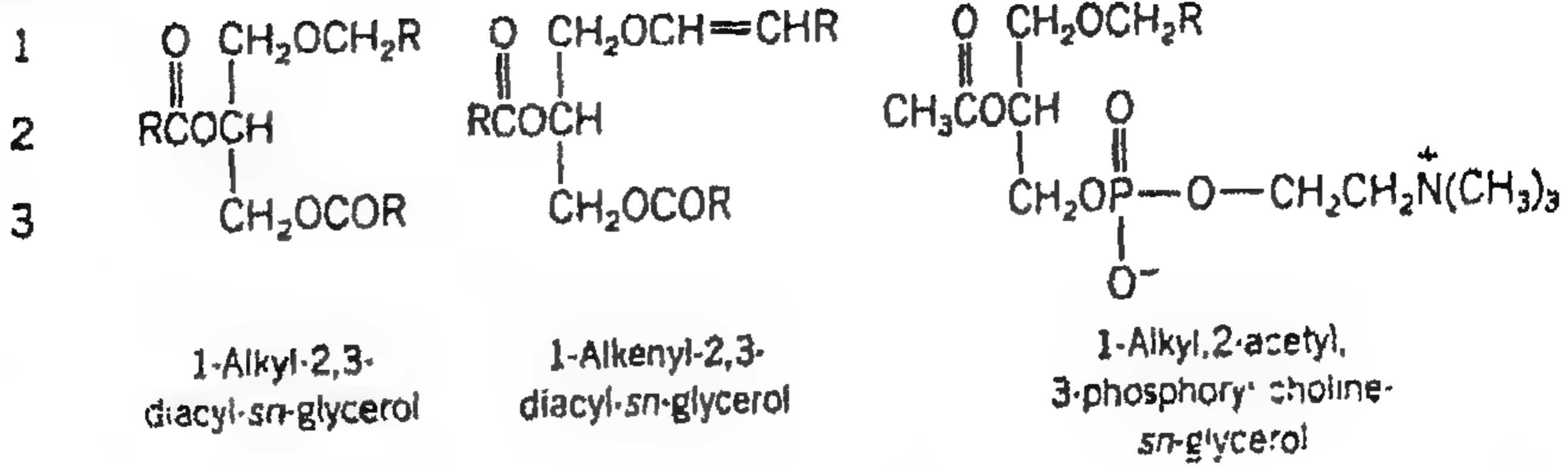
وهي مشتقات كلسيريديّة- كربوهيدراتية إمفيباثية في طبيعتها وتضم الشحوم الكالكتوزية والشحوم الكبريتية التي توجد خاصة في أغشية الكوروبلاست وتركيباتها كالآتي:



8-2 إيثرات الكسيرول

وهي مجموعة مركبات جديرة بالاهتمام نجدها في الكائنات البحرية وفي أنواع أخرى من الحيوانات يمتلك الموقع رقم (1) (C_1 للكسيرول) إيثرًا إلكيلياً مشبعاً أو غير مشبع والموقع رقم (2) ثمالة أسيل فيما يمكن أن يحتوي الموقع رقم (3) على جزء إسييلي أو مجموعة كولين فسفاتية:

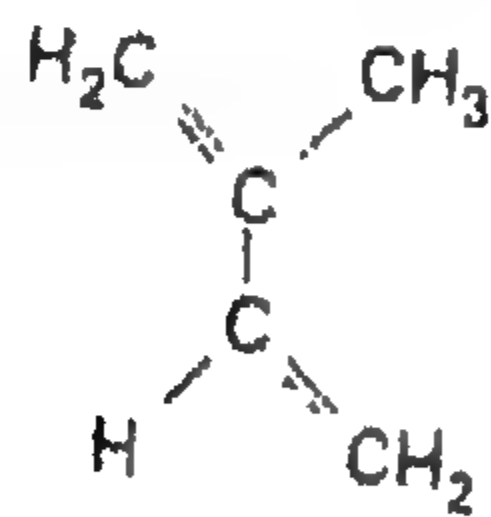
Position



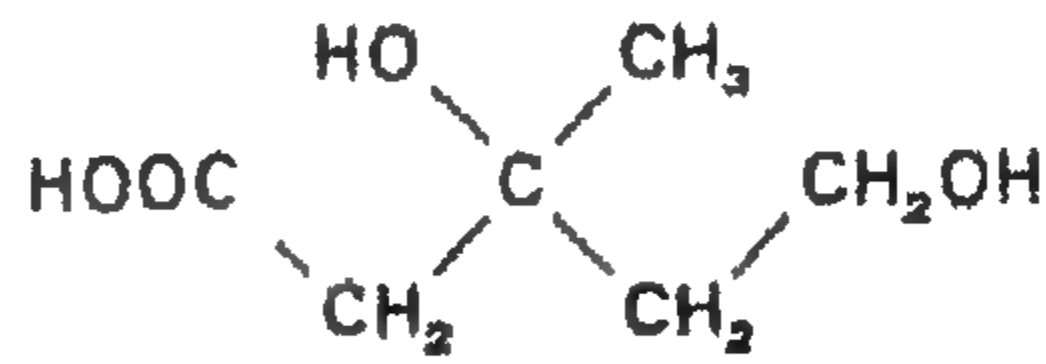
إن وظيفة هذه المركبات غير واضحة حالياً ولقد وجد مؤخراً بأن المركب Alkyl-2-1 choline Acetyl-sn-glycerol-3-phosphoryl يـؤـدي إلى تجمع الصفائح الدموية عند وجوده بتركيز - 10 مولار. ويدل هذا التركيز الواطيء على أن لهذا المركب تأثيراً فيزيولوجياً مهماً.

9-4 التربينويدات والستيرويدات Terpenoids and Sterols

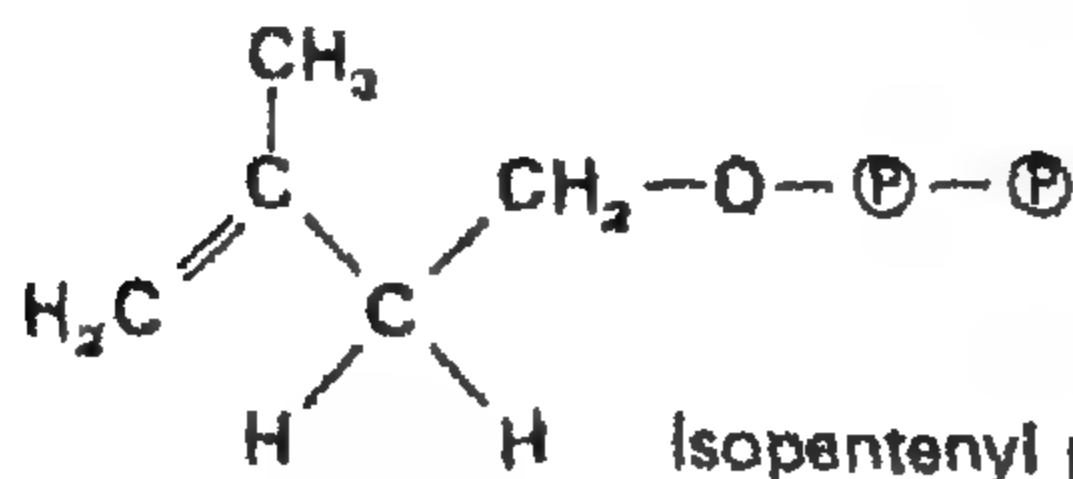
التربينويدات مجموعة كبيرة لمركبات مهمة نجد في تركيبها وحدة متكررة وهي وحدة الايزوبروينويد. ونتيجة لتكاثف هذه الوحدة تتكون مركبات مثل المطاط والكاروتينويدات والستيرويدات وتربينات عديدة. لا يوجد الايزوبروين في الطبيعة إلا أن المشتق isopentenyl pyrophosphate يتكون بسلسلة من التفاعلات الأنزيمية ابتداء من حامض الميفالونك Mevalonic.



"isoprene unit"



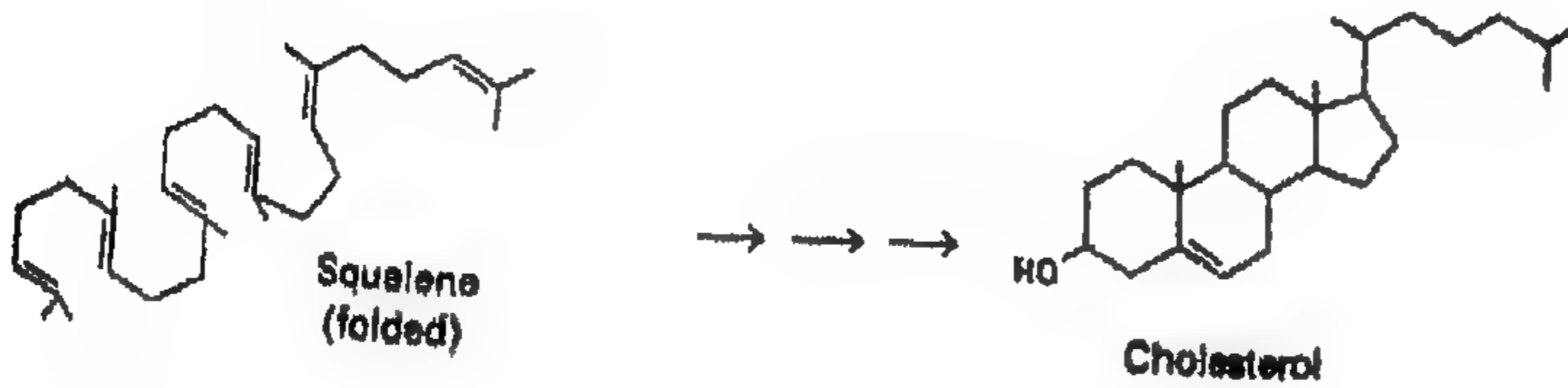
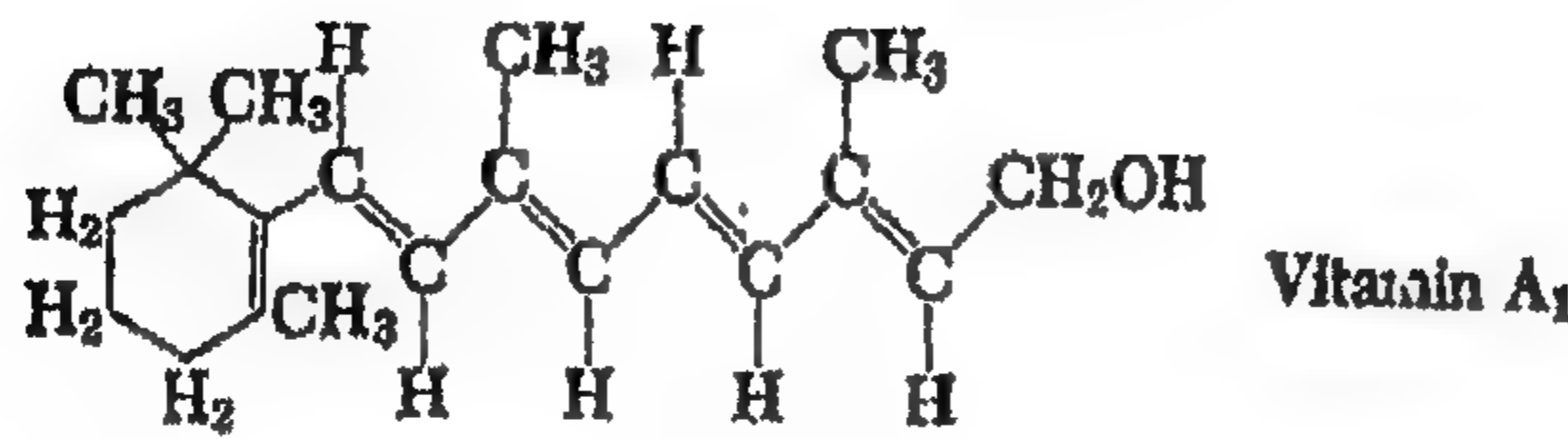
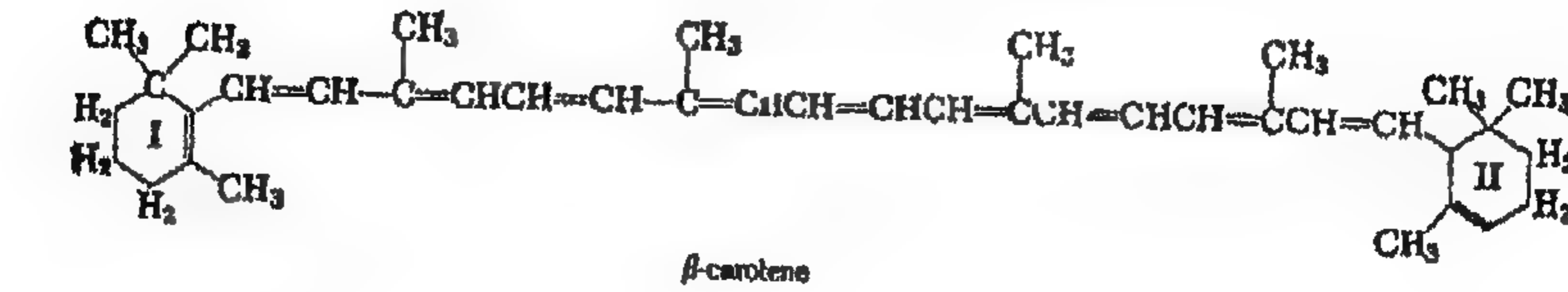
mevalonic acid



Isopentenyl pyrophosphate (C₅)

ويعاني المركب Isopentenyl pyrophosphate تفاعلات أخرى لتكوين السكوالين الذي يتكاثف مع نفسه لتكوين الكولسترول.

ومن التربينويدات المركب بيتا-كاروتين B-carotene الذي ينشط في خلايا الأمعاء المخاطية لتكوين الريتينول Retinol.



10-4 وظائف الشحوم

تلعب الشحوم دوراً مهماً في الوظائف الخلوية. فهي تمثل صيغاً للطاقة المخزونة في الخلية كما تلعب دوراً جوهرياً في تركيب أغشية الخلايا والعضيات الخلوية ومن الوظائف المهمة للشحوم:

1. مصادر رئيسية للطاقة في الحيوانات والحشرات والطيور والبذور الغنية بالشحوم.

2. منشطات للإنزيمات: تحتاج بعض الأنزيمات الميكروسومية Microsomal

وكمثال Glucose-6-phosphatase و Stearoyl CoA desaturase و

Monooxygenase وأنزيم الماييتوكوندرية D-β-hydroxy-butyric

dehydrongnase إلى مذيلات فسفاتديل الكولين Phosphatidyl choline لتنشيطها.

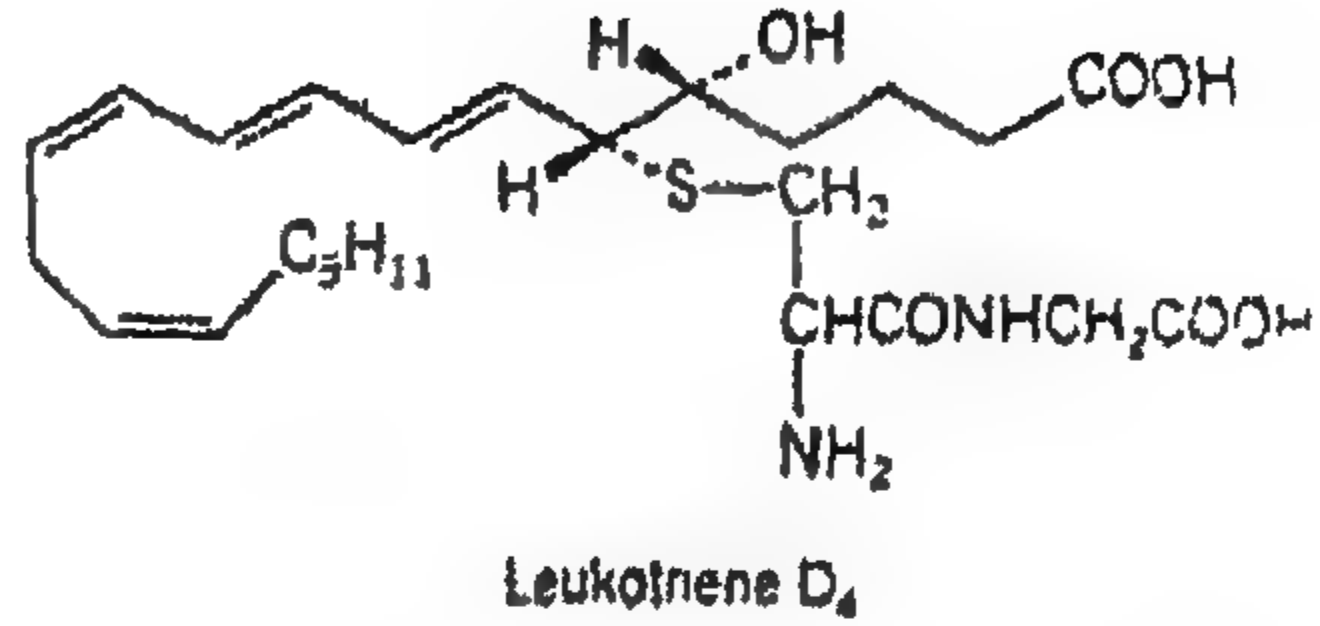
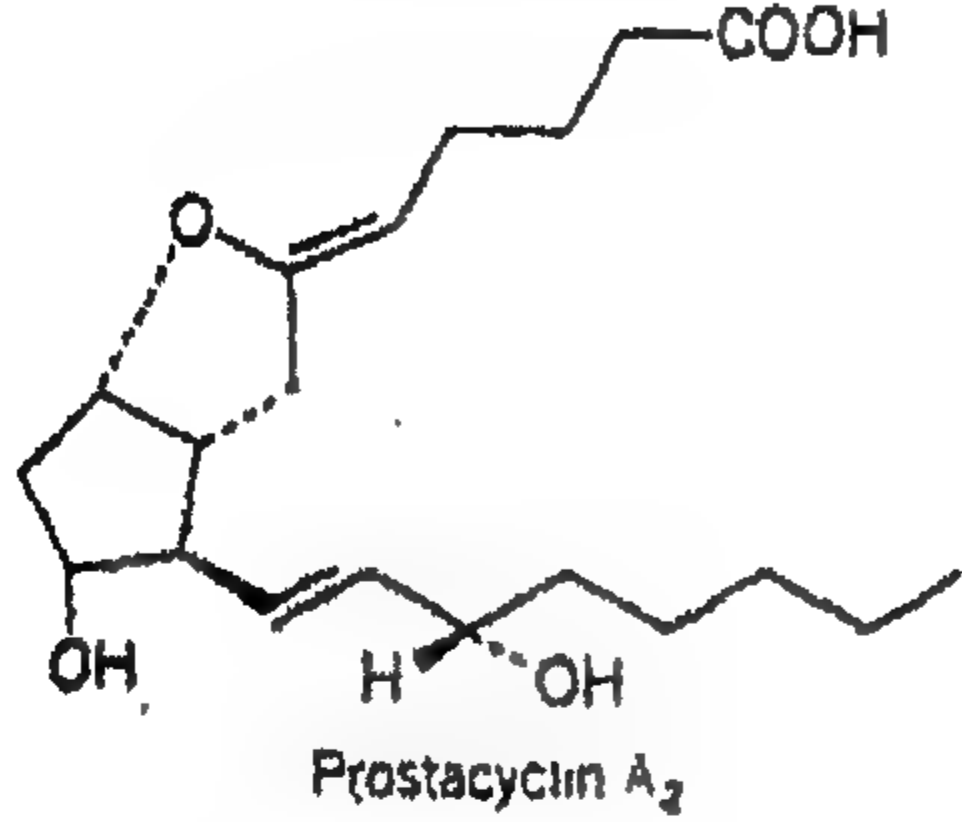
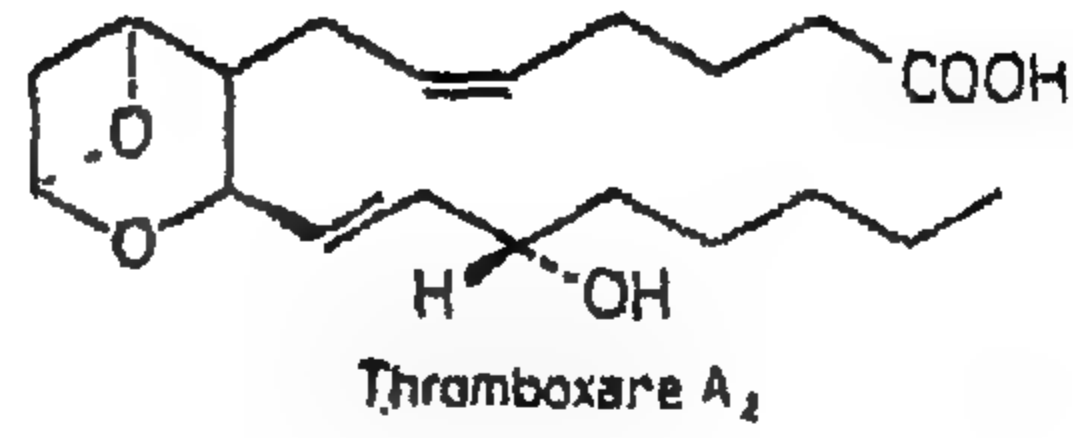
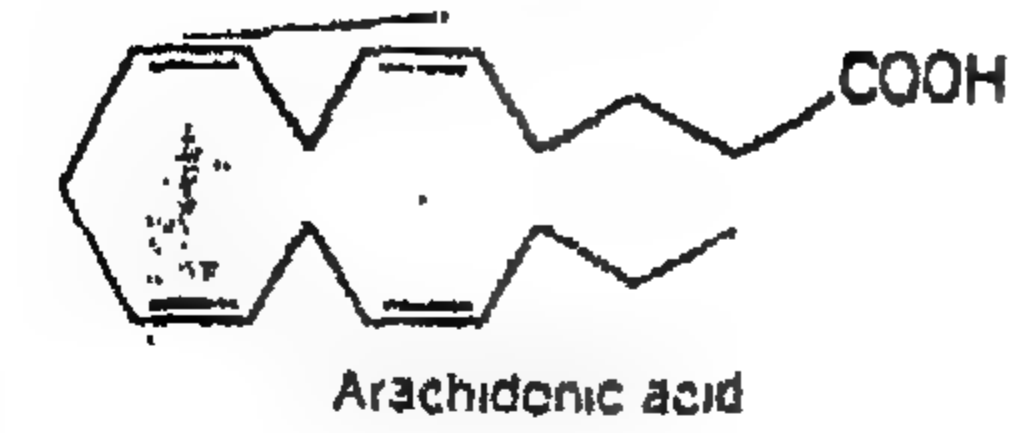
3. مكونات السلسلة التنفسية في غشاء المايتركونديريا الداخلي:

تحتوي السلسلة التنفسية على بعض المكونات الشحمية المضمنة في الشحوم الفسفاتية للغشاء وكمثال اليويكوبونون Co Q. وكذلك الحال في نظام الفسفرة الضوئية الموجود في أغشية الثايلكويد Thylakoid للكلوروبلاستيدات في النباتات الخضراء. وتكون الشحوم الرئيسية في هذه الأغشية كلسيريديت أحادية وثنائية الكالكوتوزيل mono- α di- galactosyl diglycerides

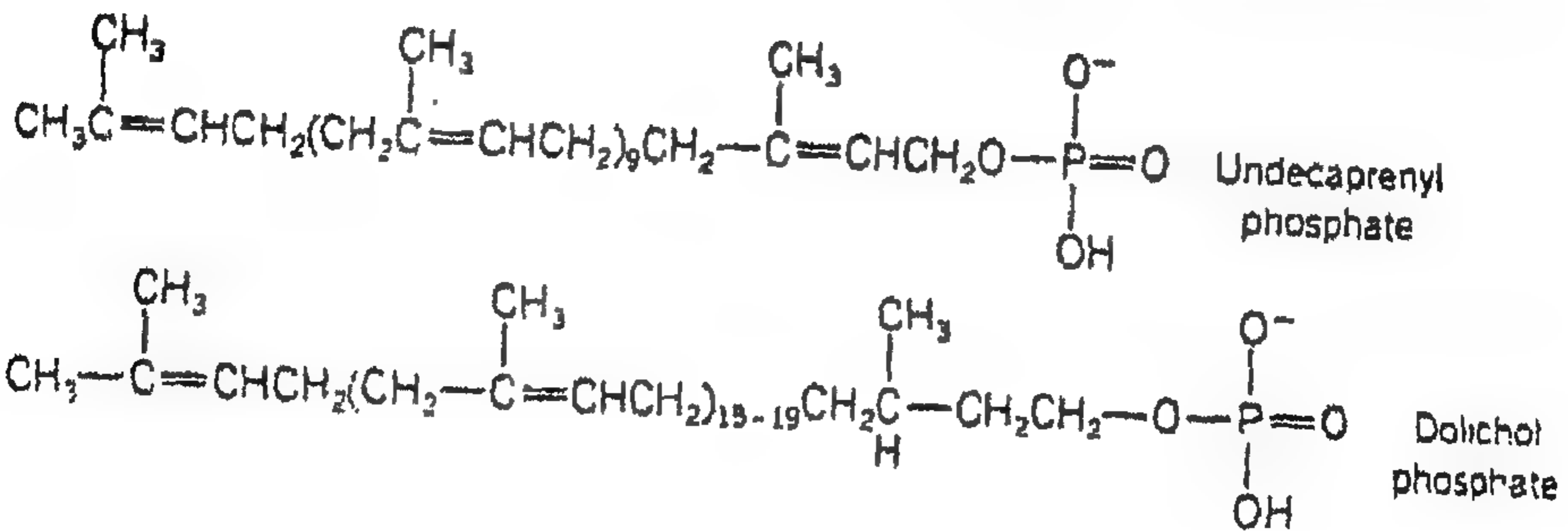
4. يمثل حامض الراكدونك (5,8,11,14) 20:4 الجزيئة السلف لتخليق البروستاكلنديينات prostaglandins واللوكترايينات Leukotrienes. وتظهر هذه المركبات تأثيرها في خلايا حيوانية معينة بتركيزات واطئة جدا (حوالي 10^{-12} مولار).

يكون حامض الراكدونك مرتبطا عادة بجزء الاسيل في الموقع (2) لعدد من الشحوم الفسفاتية وبهذا يكون غير فعال كركيزة. وعند انفصاله بتأثير أنزيم فسفوليباز A_2 (phospholipase A_2) يتحول حامض الراكدونك الحر بواسطة أنزيم ال Cyclooxygenase وأنزيمات أخرى- إلى مركبات عديدة أهمها مشتقان للبروستاكلنديين وهما بروستاسايكلين I_2 (Prostacyclin) A_2 وثرومبوكسين A_2 (Throm-Boxane A_2).

يخلق المركب الأول بصورة رئيسية في جدران الشرايين ويعد-فيزيولوجيا- اكفاً موسع وعائي Vasodilator مكتشف لحد الآن. أما الثرومبوكسين A_2 فيخلق في الصفائح الدموية ويعد أكثر مضيق وعائي Vasoconstrictor فعالية معروف لحد الآن. ولقد ثبت مؤخراً بأن اللوكترايينات Leukotriene مسؤولة عن تقلص القصيبات الهوائية في حالات الربو Asthma وتركيبات هذه المواد كالآتي:



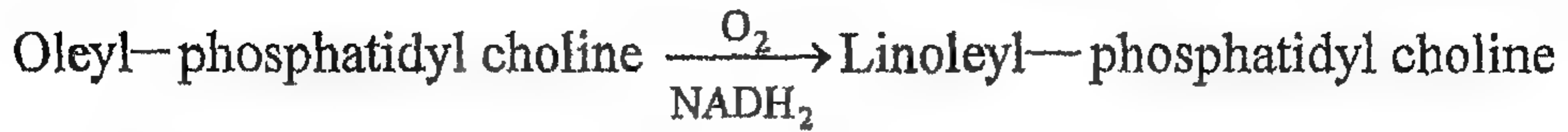
5- حمل الكلايكوسيل Glycosyl carrier يعمل المركب الايزوبرينويدي Undecaprenyl phosphate بمثابة حامض ليبوفيلي محب للشحوم، Lipophilic لثمالة الكليكوسيل Glycosyl moiety في تخليق عديدات السكريد الشحمية Lipopolysaccharides والكلايكانات الببتيدية peptidoglycans لجدار خلية البكتريا. وفي خلايا الحيوانات يقوم المركب Dolichol phosphate بهذه المهمة:



6. يعمل فسفاتديل السرين بمثابة ركيزة عند إزالة الكربوكسيل غير المباشرة للسرين وتحويله إلى الايثانولامين:



7. يعمل فسفاتيديل الكولين مع حامض الأوليك في الموقع (2)، بمثابة ركيزة متخصصة للأنزيم Δ^{12} -Desaturase الموجود في النباتات الذي يحول حامض الأوليك إلى حامض اللينوليك:



8. يعمل فسفاتيديل الانوستول ثلاثي الفسفات phosphatidyl- inositol Triphosphate بوصفه جزيئة سلف ذات دور قيادي Key precursor في تكوين مركبات في غشاء بلازما الخلية تقوم بمثابة وسيط "ساعي ثاني"، لإيصال الإشارة الأولية الصادرة عن السيتراتونين Seratonin أو الاستيل كولين بأسلوب مشابه لدور المركب CAMP ساعيا ثانيا لإيصال الإشارة الصادرة عن هورمون الكلوكاكون أو الاينفقرين.

4-11 البروتينات الشحمية

لا تنقل الشحوم بصورة حرة في بلازما الدم ولكنها تتحرك بشكل جسيمات تسمى كيلوميكرونات Chylomicrons أو بشكل بروتينات شحمية قليلة الكثافة، Low-density lipoproteins LDIP أو معقدات للحوامض الدهنية مع الإلبومين. وإضافة إلى ذلك توجد البروتينات الشحمية في تركيب الأغشية الحيوية.

ويمكن تعريف البروتينات الشحمية بمثابة صنف من الجزيئات الحيوية تكون المكونات الشحمية فيها- ثلاثي اسيل الكلسيرول وشحم فسفاتي وكولسترول أو استر الكولسترول- بنسب ثابتة في كل نوع كما في الجدول (3-4). وتحتوي الأجزاء البروتينية بدورها على نسبة عالية لثمالات الحوامض الأمينية غير القطبية التي تسهم في ربط الشحوم. ولقد أبعثت الدراسات في هذه المجال إمكانية ارتباط الشحوم بالبروتينات بأواصر تساهمية أو أيونية. وعلى

العكس من ذلك، تلعب التأثيرات الهدروفوبية (كارهة الماء) دورا بارزا في اقتران الشحوم بالبروتينات ويسمى الجزء البروتيني في البروتينات الشحمية باسم Apoprotein.

توجد البروتينات الشحمية كذلك في غشاء المايكوندريا والشبكة الهيولية الباطنة Endoplasmic reticulum والنواة. وتحتوي سلسلة نقل الإلكترونات (الموجودة في غشاء المايكوندريا الداخلي) على كميات كبيرة من البروتينات الشحمية. كما توجد أنظمة البروتينات الشحمية الصفاحية Lamellar في ميلين الغمد Myelin sheath للأعصاب وفي تركيبات المستلمات الضوئية Photoreceptive وفي الكلوروبلاست وأغشية البكتريا.

12-4 مقارنة لتوزيع الشحوم في الكائنات الحية

يختلف توزيع الشحوم بصورة عامة في الخلايا بدائية النواة procaryotic عنه في الخلايا حقيقية النواة Eucaryotic.

جدول 3-4: تركيب بعض البروتينات الشحمية

المصدر	البروتين الشحمي	الوزن الجزيئي	البروتين	الشحم الفسفاتي	الكوليسترول (حر + استر)	ثلاثي أسيل الكليسيرول
مصل الدم	كيلوميكرون ذو كثافة واطئة جدا VLDIP	10-10 10×100^{-5} 10x2	2 10-5 25	6-3 20-15 20	5-2 25-10 45	95-80 65-40 10
	ذو كثافة واطئة LDLP ذو كثافة عالية HDLP	10x0.25	50-40	30	20	5-1
صفار البيض (الحليب)	B-Lipovite lin ذو كثافة واطئة	10x4 10x4	78 13	12 52	1 صفر	9 35

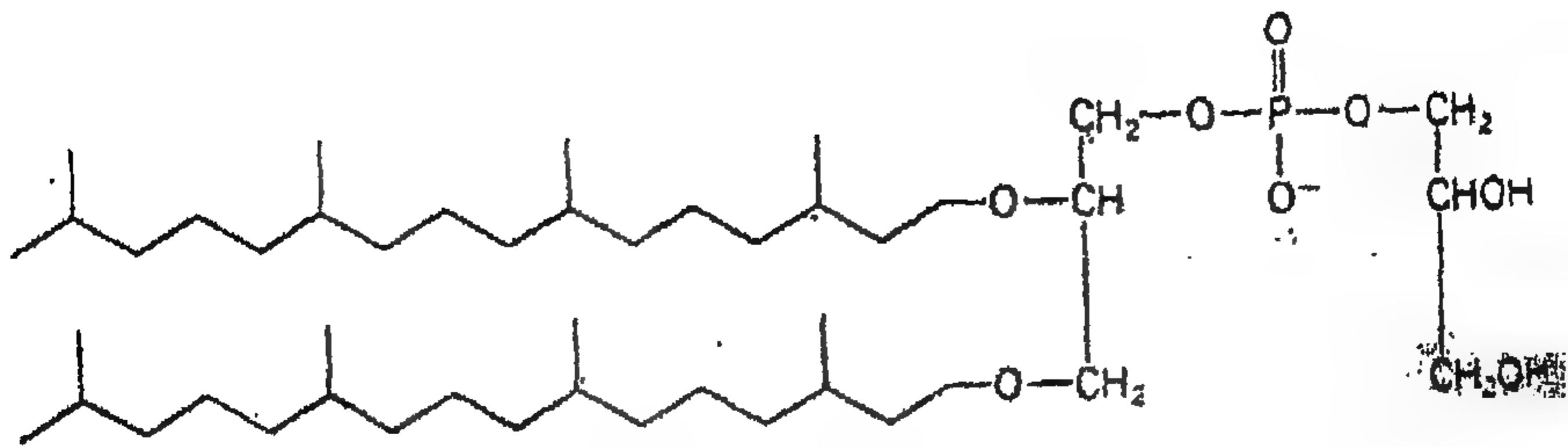
12-4-1 الخلايا بدائية النواة Procaryotic cells

يوجد في خلية البكتيريا ما يزيد على 95% من الشحوم جزءاً من غشاء الخلية وتتنوع الباقي (5%) بين الساييتوبلازم وجدار الخلية وتتميز خلايا البكتيريا بعدم وجود الستيرويدات في خلاياها. لا تتمكن هذه الخلايا من تخليق الحلقة الستيرويدية على الرغم من قدرتها على تكوين بوليمرات ايزوينويدية مستقيمة.

كما لا تحتوي البكتيريا عدا المتفطرة *Mycobacteria* على ثلاثيات اسيل الكلسيرول. لا تستطيع البكتيريا كذلك تخليق الحوامض الدهنية عديدة الأواصر المزدوجة غير المتبادلة والمعروفة (جدول 4-1) عدا عن العصيات *Bacilli* التي تستطيع تخليق (7.10) 16:2 وبهذا فإن البكتيريا تستطيع تخليق الحوامض الدهنية المشبعة وأحادية الأصرة المزدوجة والبروبان الحلقي ومتشعبة السلسلة. وفي الواقع نجد أن بعض أنواع البكتيريا مثل المفطورة *Mycoplasma* وبعض طوافر *Mutants* البكتيريا *E.Coli* قد فقدت قدرتها على تخليق الحوامض الدهنية أحادية الأصرة المزدوجة وتحتاج إلى وجودها في الوسط الزراعي.

ومن الجدير بالذكر، عدم وجود الحوامض الدهنية في الكائنات بدائية النواة المسماة *Archaeobacteria* وتضم هذه الكائنات البكتيريا المنتجة للميثان في الظروف اللاهوائية والبكتيريا القادرة على العيش في درجات حرارة عالية *Thermophilic bacteria* والبكتيريا القادرة على المعيشة في البحيرات ذات الملوحة العالية *Halophilic bacteria* ونجد في غشاء الخلية لهذه الكائنات ايثرات الكلسيرول عوضاً عن الشحوم الفسفورية مشتق تريينويدي *Terpenoid* (وهو ثماله الفايثيل *Phytanyl* عوضاً عن مشتق الحامض الدهني وكمثال:





ولا يعرف حاليا الأهمية التطورية لوجود هذه الشحوم المتميزة في هذه الكائنات البدائية.

2-12-4 الخلايا حقيقية النواة Eucaryotic cells

النباتات:

تحتوي بذور النباتات الزهرية- بصورة عامة- تكوينا ثابتا من الحوامض الدهنية تمثل تعبيرا للنمط الظاهري phenotypic لنوعها الجيني Genotype، وتوجد الحوامض الدهنية غير الشائعة جزءا من تركيب ثلاثيات اسيل الكلسيرول وفي البذور الناضجة ولا توجد في العضيات مثل الماييتوكوندريا والكلوروبلاست.

وتتملك الكلوروبلاستات الموجودة في النباتات الزهرية نمطا ثابتا من الحوامض الدهنية والشحوم المعقدة. ونجد بصورة خاصة الحامض الدهني عديد الأصرة المزدوجة الفا- لنولنك مقترنا بشحوم أربعة معقدة وشديدة القطبية تتميز بها الأنسجة القادرة على التركيب الضوئي وهي:

أ- Monogalactosyl diacyl glycerol

ب- Digalactosyl-diacyl glycerol

ج- Sulfo quinovosyl-diacyl glycerol

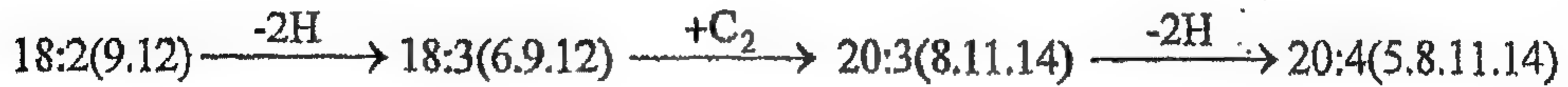
د- phosphatidyl glycerol

تقترن هذه الشحوم بصورة وثيقة بالأغذية الصفاحية للكلوروبلاستيدات. وتخلق النباتات الزهرية مدى واسعاً من الحوامض الدهنية عديدة الأصرة المزدوجة وأهمها في تغذية الإنسان- حامض اللنولييك [18:2 (9.12)]

الحيوانات:

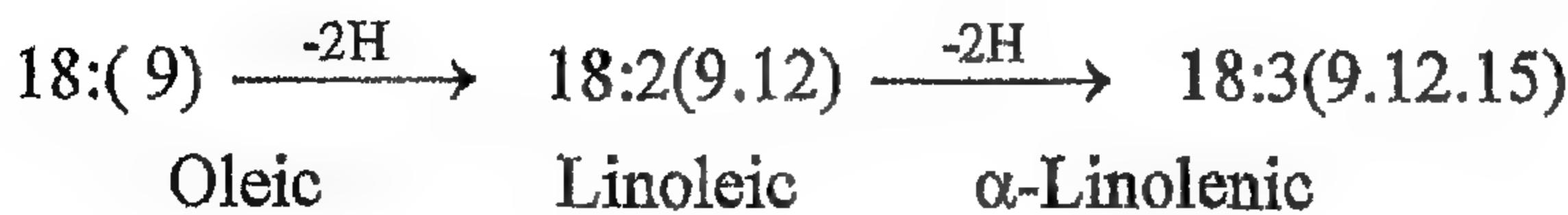
لا تقل شحوم الخلايا الحيوانية تعقيداً عن شحوم الخلايا النباتية. كما أن تكوينها مميز لنوع الخلية. فمثلاً تكون الخلية العصبية غنية بالشحوم السفنكولية وإيثرات الكلسيرول والبلازموجينات plasmalogens والشحوم الفسفاتية. أما الخلية الدهنية Adipose cell فتتكون بصورة أساسية من قطيرات لثلاثي أسيل الكلسيرول. وهناك ميزة بارزة لخلايا المملكة الحيوانية وهي عدم قدرتها على تخليق حامض اللنولييك. وبصورة عامة تستطيع الخلايا حقيقية النواة (النباتية والحيوانية) تخليق Oleyl CoA من المركب Stearoyl CoA بالية هوائية Aerobic mechanism يتم بها إدخال أصرة مزدوجة من نوع المقرون في الموقع 9، 10 (Cis-9.15) إلا أن الحيوانات لا تمتلك الأنزيمات القادرة على إدخال أصرة مزدوجة أخرى في حامض الأوليك لتكوين حامض اللنولييك على الرغم من انتشار أنزيم Desatvrase لهذا الغرض في المملكة النباتية. إضافة إلى ذلك تستطيع الخلايا الحيوانية إدخال أواصر مزدوجة من نوع المقرون Cis في السلسلة الهيدروكربونية باتجاه النهاية الكربوكسيلية فقط بينما تستطيع الخلايا النباتية إدخال أواصر مزدوجة باتجاه الطرف المثلي:

أ. في الخلايا الحيوانية:



linoleic γ -linolenic Home- γ -linolenic Arachidonic

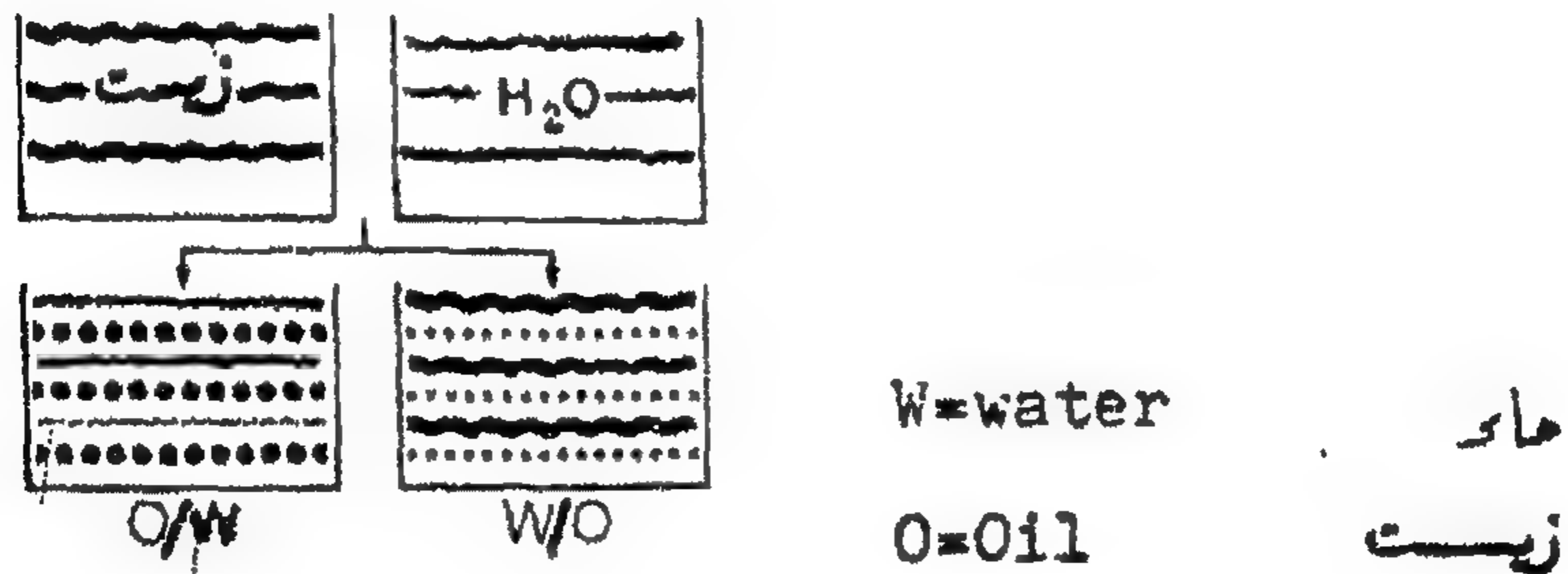
ب- في الخلايا النباتية:



4-13 العوامل النشطة في السطوح (عوامل الإستحلاب) Surface Active Agents

تلعب بعض المواد الطبيعية والصناعية دوراً مهماً في الطبيعة والصناعة حيث تعمل على خفض شدة التوتر السطحي البيني Interface بين طورين غير قابلين للامتزاج مؤدية إلى تكوين مستحلب مستقر وتسمى هذه المواد عوامل نشطة في السطوح. وقبل الدخول في تفاصيل هذه المركبات لا بد من شرح موجز للمستحلب.

يتكون المستحلب عند رجّ سائلين غير قابلين للذوبان رجّاً قوياً وكمثال الزيت والماء، حيث تنتشر قطرات أحد السائلين في السائل الآخر. فإذا نتج المستحلب عن انتشار قطرات الماء في الزيت سمي مستحلب الماء في الزيت ويرمز له ماء / زيت. ويكون الزيت الطور الخارجي للمستحلب. أما إذا تكون المستحلب نتيجة لانتشار قطرات الزيت في الماء سمي متسحلب الزيت في الماء ويرمز له زيت / ماء ويكون الطور الخارجي ماء كما في الشكل (4-1) أدناه.



شكل (4-1) مستحلب (أ) ماء / زيت و (ب) زيت / ماء.

ويكون المستحلب مستقراً عندما تكون شدة التوتر السطحي البيني بين السائلين منخفضة وبالعكس ينفصل السائلان بعضهما عن بعض إذا كانت شدة التوتر السطحي البيني عالية وهنا يكمن دور المواد الفعالة في السطوح حيث تخفض

شدة التوتر السطحي البيني وتؤدي إلى تثبيت قطرات أحد السائلين في الثاني ولهذا تسمى عوامل الإستحلاب.

ويمكن تقسيم العوامل النشطة في السطوح والمتخدمة في الأغذية إلى قسمين:

1. العوامل الطبيعية

- أ. العوامل الأيونية: كالبروتينات والشحوم الفسفورية مثل اللسثين Lecithin.
- ب. المركبات المتعادلة: وكمثال الشحوم الكربوهيدراتية Glycolipids والصابونينات Saponins.

2. العوامل الصناعية synthetic

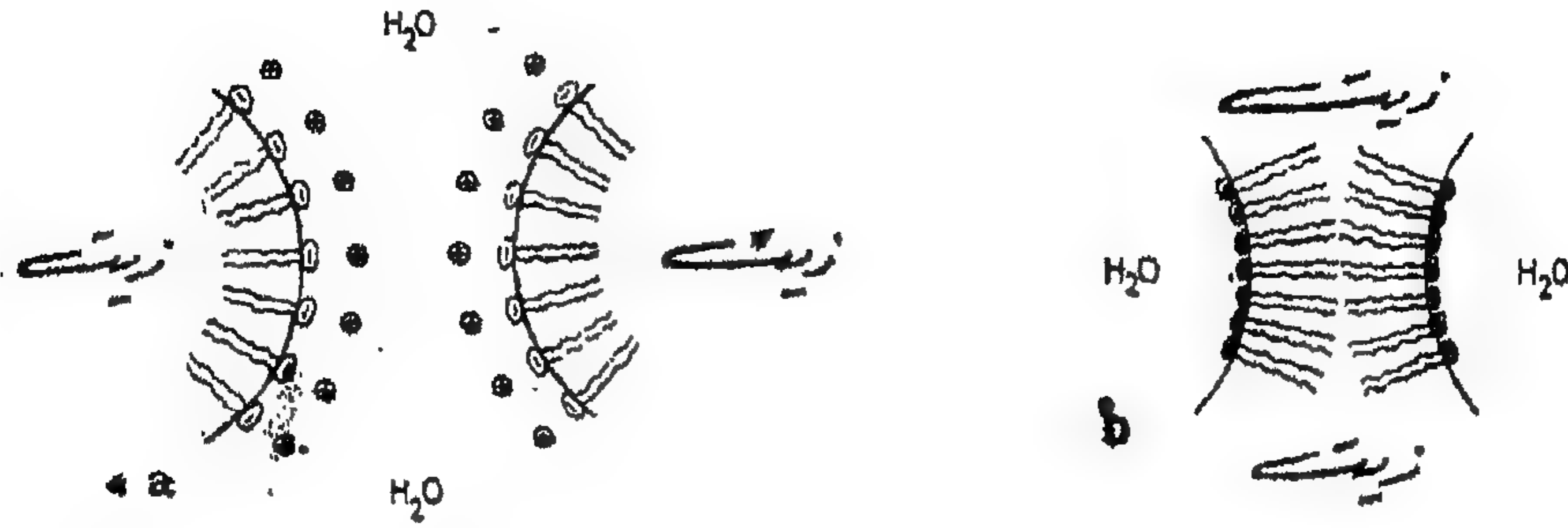
- أ. المركبات الأيونية: وكمثال Stearyl-2 Lactylate
- ب. المركبات المتعادلة: أحاديات وثنائيات الكلوريدات واستراتها المتكونة مع حامض الخليك أو الستريك أو التارتريك أو اللاكتات، وكذلك استرات الحوامض الدهنية للسكروروز أو للسوربيتول Sorbitol.

4-13-1 آلية عمل المواد النشطة في السطوح (عوامل الاستحلاب)

تمتلك عوامل الاستحلاب في تركيبها جزءا محبا للماء Hydrophilic وآخر كارهها له Hydrophobic ومحبا للزيت وتسمى جزيئات من هذا النوع جزيئات امفيباثية Amphipathic لوجود الجزئين: القطبي محب الماء وغير القطبي أو الهيدروفوبي كاره الماء، يتكون الجزء القطبي عادة من مجموعة متأينة أو مجاميع هيدروكسيلية أو ايثر متعدد الكلايكول polyglycoether بينما يتكون الجزء غير القطبي عادة من سلسلة الكيلية Alkyl Chain.

تعمل عوامل الاستحلاب الايونية عادة على تثبيت مستحلب الزيت في الماء حيث يذوب جزء الالكيل لعامل الإستحلاب في الطور البيني وباتجاه قطرات

الزيت في الوقت الذي تتجه المجاميع المشحونة نحو جزيئات الماء مؤدية إلى استقطابها وتكوين طبقة مها مشحونة بالشحنات المخالفة كما في الشكل (4-2-أ).



شكل (4-2) آلية عمل المستحلبات (أ) الأيونية (ب) المتعادلة.

أما عوامل الاستحلاب المتعادلة فتترتب جزيئاتها على سطح قطرات الزيت بحيث يكون الجزء القطبي منها باتجاه الطور المائي (شكل 4-2-ب).

4-13-2 نسبة الخاصية المحبة للماء إلى الخاصية الكارهة له لعوامل الإستحلاب

Hydrophilic-lipophilic balance, HLB

تكون عوامل الاستحلاب أكثر ذوباناً في الزيوت عندما تكون مجموعاتها الكارهة للماء أقوى من مجموعاتها المحبة للماء. وبالتالي تحبذ هذه المواد تثبيت مستحلب الماء في الزيت والعكس صحيح أيضاً. أي أن عوامل الإستحلاب التي تكون مجموعتها الكارهة للماء أضعف من مجموعتها المحبة للماء أكثر ملائمة لتثبيت مستحلب الزيت في الماء (زيت/ماء). يتضح مما تقدم بأن ملائمة عامل الإستحلاب لتحضير مستحلب معين يحددها نوع وعدد المجموعات المحبة والكارهة للماء في جزيئة عامل الإستحلاب.

وتمثل القيمة HLB نسبة قوة المجموعات المحبة للماء إلى المجموعات الكارهة له في عوامل الإستحلاب وتكون هذه القيمة واطئة لعوامل الإستحلاب

الكارهة للماء (أي التي تغلب فيها الخاصية الكارهة للماء) وتزداد بازدياد قوة الجزء المحب للماء في الجزيئة فمثلا تكون القيمة HLB لحامض الأوليك (1) والملح Na-oleate تصبح (18).

واستناداً لما تقدم تمتلك عوامل الإستحلاب المستخدمة لمستحلبات الماء في الزيت (ماء/زيت) قيمة HLB واطئة بينما تستخدم عوامل الإستحلاب ذات قيمة HLB عالية لتثبيت مستحلبات الزيت في الماء (زيت/ماء) ويوضح الجدول 4-4 قيم HLB لبعض عوامل الإستحلاب.

جدول 4-4: قيم HLB (نسبة الخاصية المحبة للماء إلى الخاصية الكارهة له) لعوامل الإستحلاب (المواد الفعالية في السطوح).

قيمة HLB	عامل الإستحلاب
1	Oleic acid
2.1	Sorbitan tristearate
3.4	Stearyl monoglyceride
4.7	Sorbitan monostearate
8.6	Sorbitan monostearate
9.8	Gelatin
10.5	Polyoxyethylene-Sorbitan tristearate
10.5	Methyl cellulose
14.9	Polyoxyethylene-Sorbitan monostearate
15	Polyoxyethylene-Sorbitan monooleate
18	Sodium oleate
20	Potassium oleate

4-13-3 وصف عوامل الاستحلاب

أ. فسفاتيدات phosphatides

تستخدم فسفاتيدات الامونيوم بوصفها مواد استحلاب في الأغذية. وهي استرات للحوامض الدهنية وحامض الفسفوريك مع الكلسيرول وتكون شمالة

حامض الفسفوريك بشكل أملاح الامونوم. ويمكن لهذه المركبات أن تكون كلوريدات أحادية أو ثنائية.

تحضير فسفاتيدات الامونوم

هناك ثلاث خطوات في تحضير هذه المركبات:

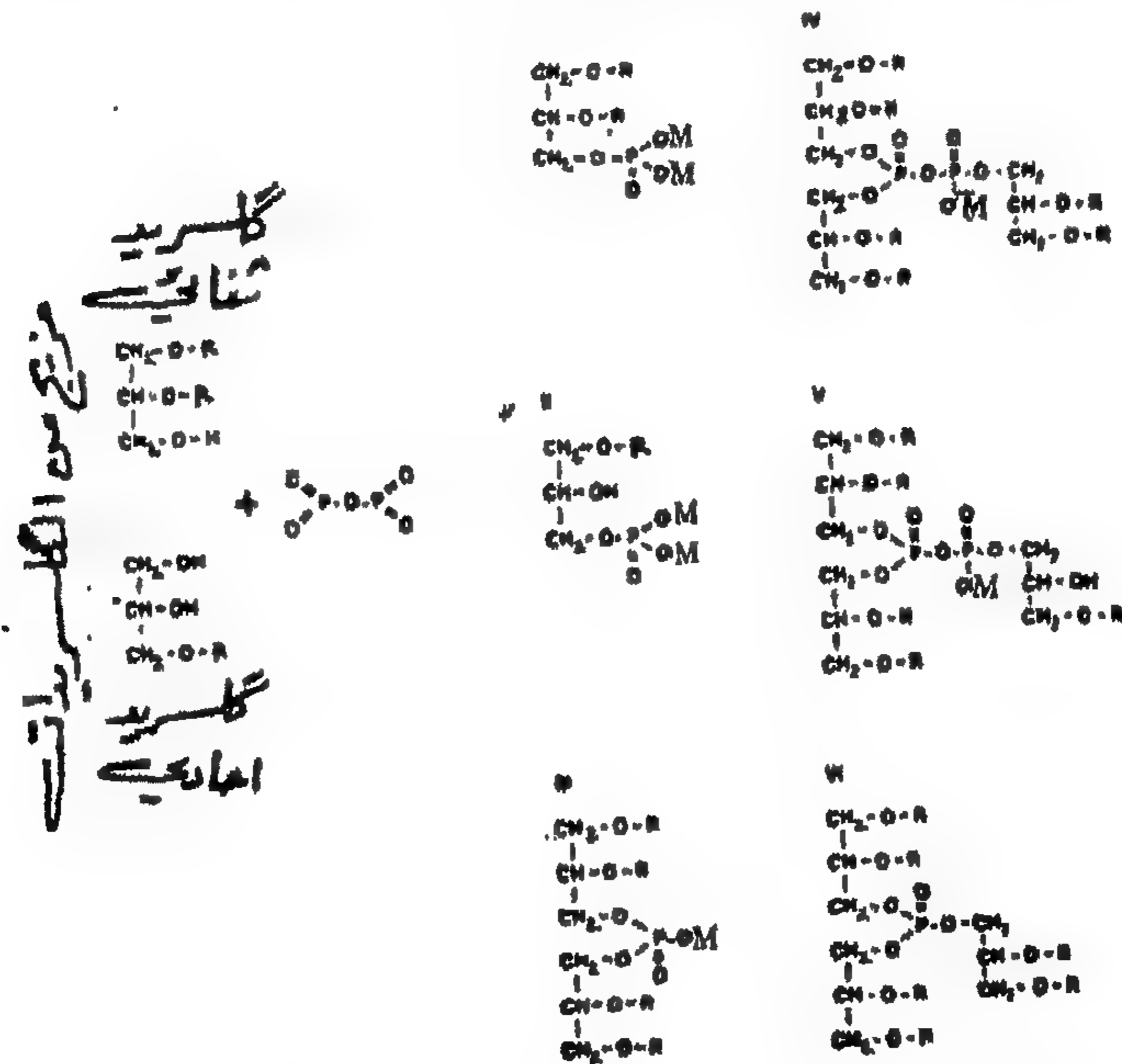
الخطوة الأولى: تحضير مزيج من الكلوريدات، ويتم اختيار ظروف التفاعل بحيث تكون نسبة إنتاج الكلوريد اعلى ما يمكن.

الخطوة الثانية: يتم التفاعل في ظروف محددة بين مزيج الكلوريدات المحضر

في الخطوة الأولى وخامس اوكسيد الفسفور P_2O_5 phosphorus pentoxide

الخطوة الثالثة: يعادل المزيج الناتج عن الخطوة الثانية باستخدام غاز الامونيا

ويتكون نتجه لذلك عدة مركبات وأهمها المركبات الست المبينة في أدناه:



إذ تمثل R ثمالة الحامض الدهني $H=M$ أو NH_4^+ أما تسمية المركبات

المرقمة I إلى VI فكما يأتي:

I: حامض الفسفاتيدك أو Ammonium Phosphatide

أو Mono- diglyceridyl phosphate

أو Mono-diglyceridyl ammonium phosphate

II: Lysophosphatidic acid Mono-monoglyceride phosphate

أو Mono-monoglyceridyl ammonium phosphate

III: Bis- phosphatidic acid أو

Bis- diglyceridyl ammonium phosphat

IV: Bis- phosphatidyl monophosphatidic acid

أو Tris- diglyceridyl pyrophosphate

أو Tris- diglyceridyl ammonium pyrophosphate

V Bis- phosphatidyl-Lyso- phosphatidic acid

أو Bis- diglyceridyl - mono - monoglyceridyl ammonium pyrophosphate

VI Tris- phosphatidic acid أو Tris- diglyceridyl phosphatidic acid

Bis- diglyceridyl phosphatide

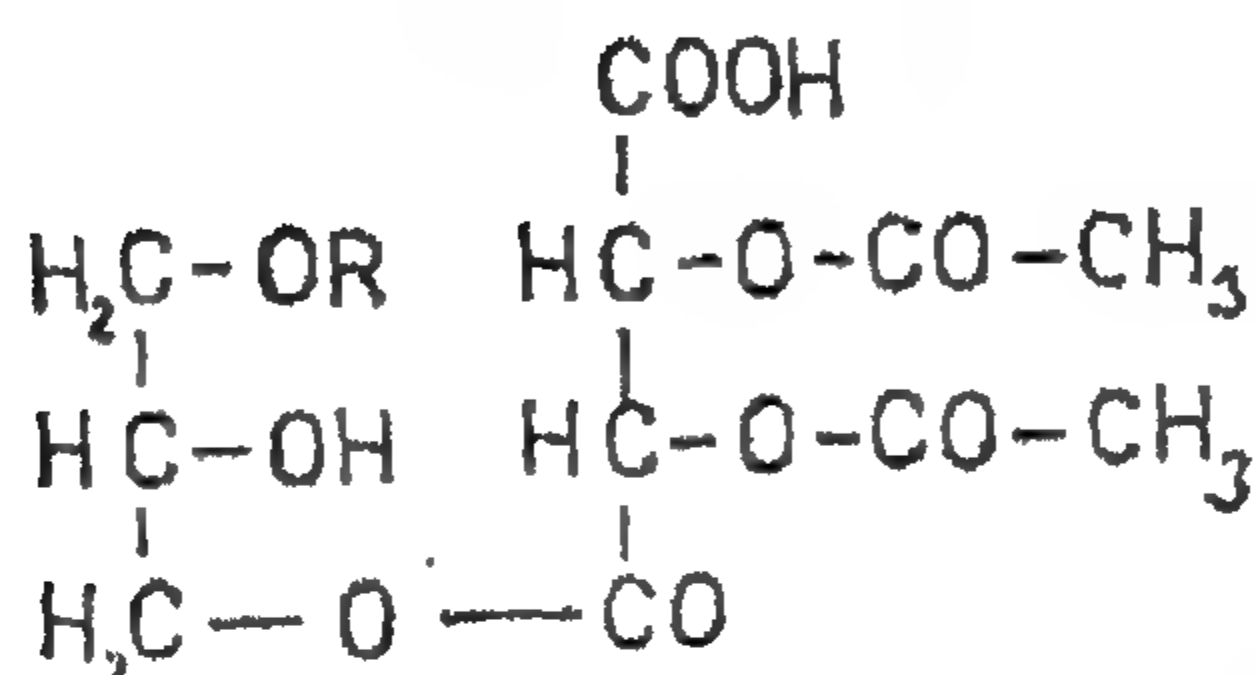
ب. اللستين Lecithin

تعد مجموعات اللستين من مواد الاستحلاب المهمة جداً في تصنيع الأغذية. ويستخدم اللستين الخام عادة في الأغذية حيث يستخلص بصورة رئيسية من فول الصويا ومن صفار البيض وينتج اللستين بصيغتين ذائبة وغير ذائبة في الإيثانول، ويستخدم اللستين الذائب في الإيثانول لتثبيت مستحلب زيت/ماء ويتميز بقيمة HLB عالية تبلغ 14-15 بينما يستخدم اللستين غير الذائب في الإيثانول لتثبيت مستحلب ماء/زيت.

جـ. أحادييات الكلسريد

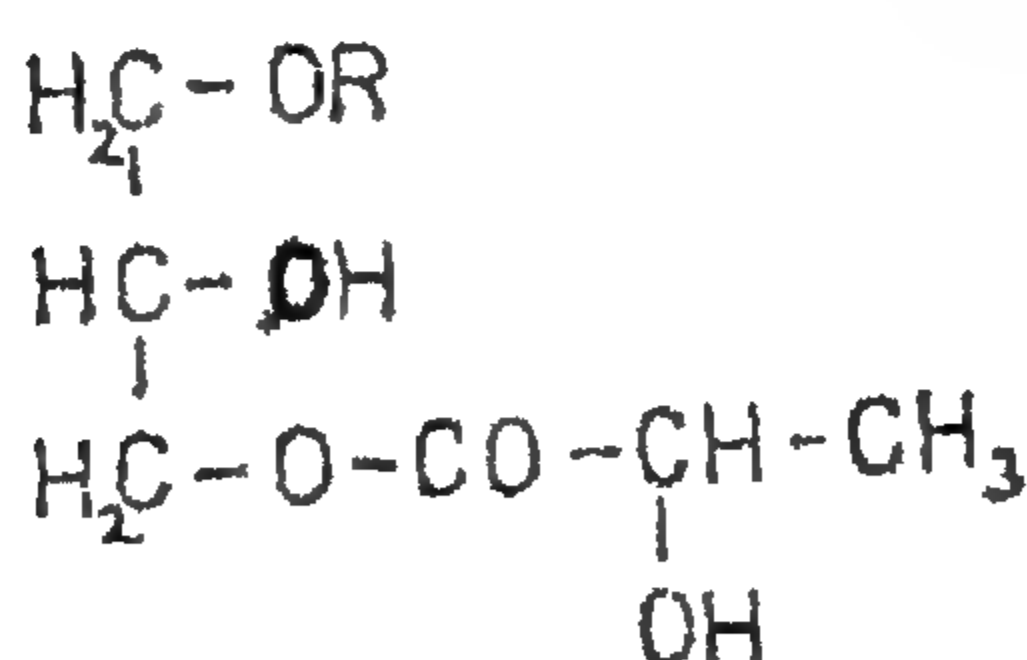
تعد أحادييات الكلسريد من مواد الإستحلاب الطبيعية ذات قيمة HLB واطئة فهي مثلاً 3.8 للمركب Monostearoyl glycerol بينما لا تمتلك ثنائيات الكلسريد صفة عوامل استحلاب ويمكن زيادة الخاصية المحبة للماء لأحادييات الكلسريد من خلال استترتها مع مجموعات محبة للماء وكمثال المركب:

Diacetyl tartaric acid monoglyceride

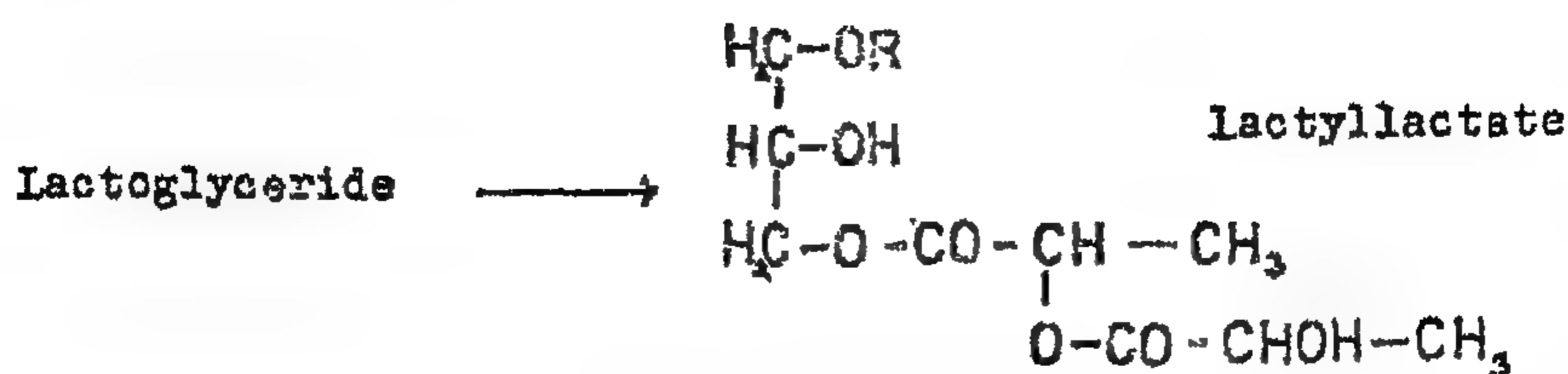


ويتم تحضير هذا المركب بتسخين أحادي الكلسريد مع Diacetyl tartaric acid anhydride الذي يمكن الحصول عليه بمفاعلة أنهيدريد حامض الخليك Acetic anhydride مع حامض التارتاريك. ويستخدم المركب Diacetyl tartaric acid Monoglyceride في تحضير المعجنات.

ومن المركبات أيضاً في هذه المجموعة Monoglyceride lactate أو لاكتو-كلسريد Lactoglyceride وينتج عن تفاعل حامض اللاكتك مع أحادي الكلسريد، ويمكن

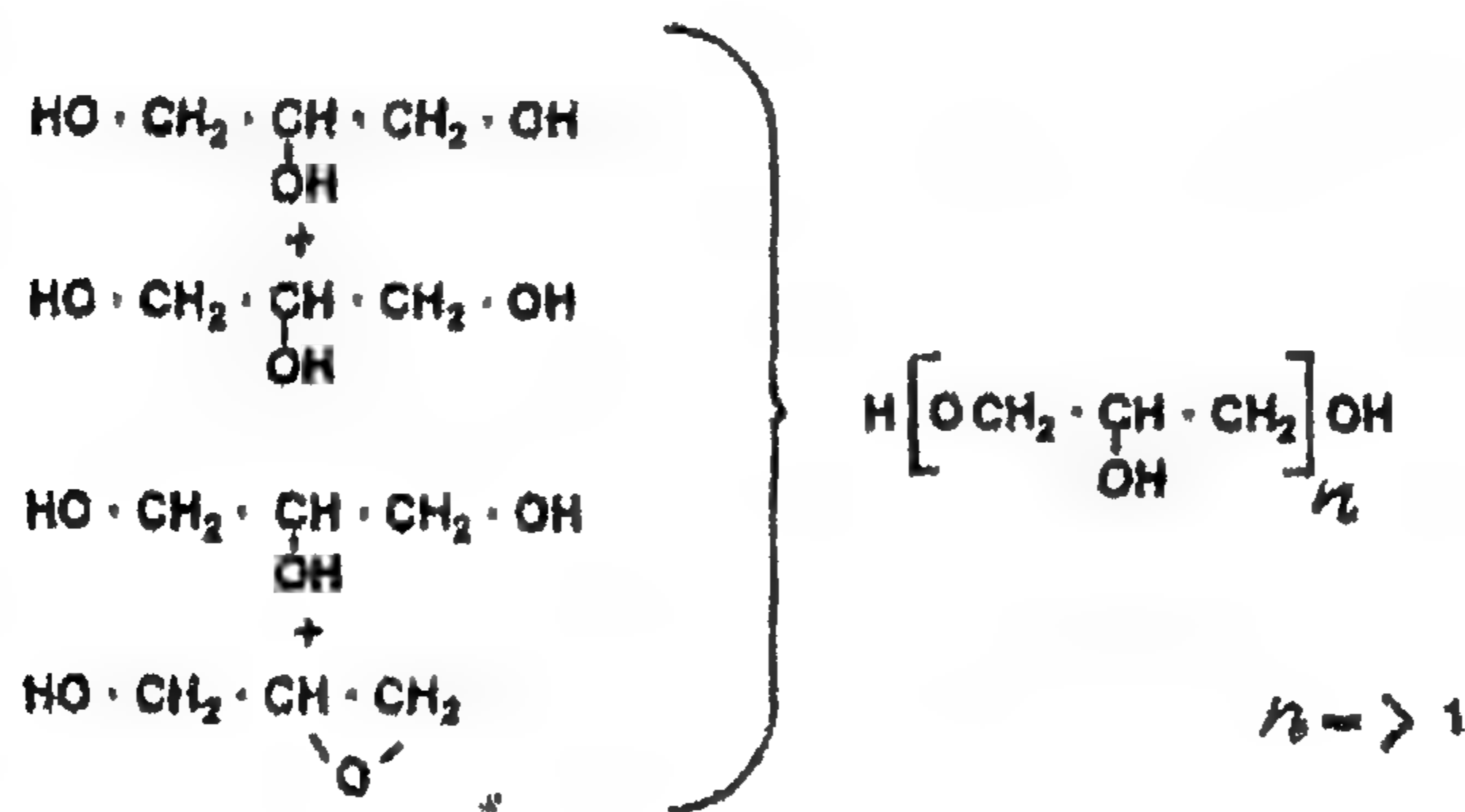


زيادة الخاصية المحبة للماء لهذا المركب بتفاعله مع حامض اللاكتك مرة ثانية ويتكون نتيجة لذلك المركب Lactyl lactate

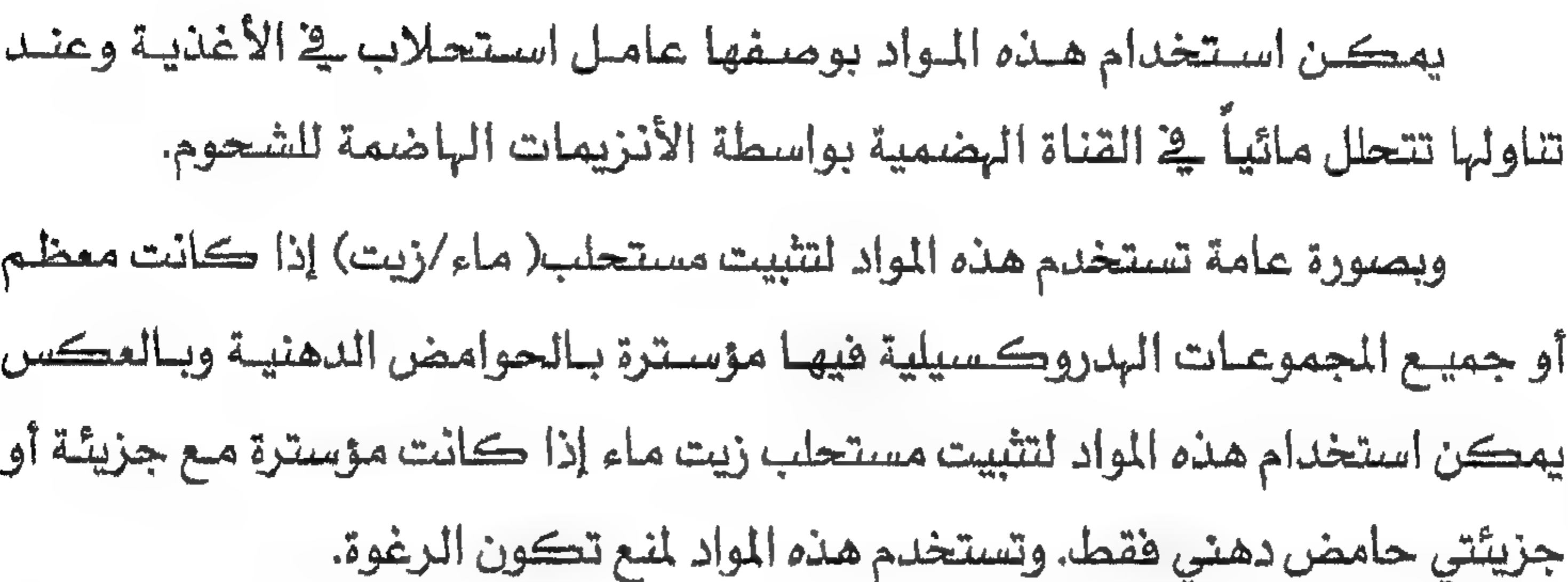


د. استرات عديد الكلسيروول Polyglycerol ester

وتحضر كالآتي (1) يسخن الكلسيروول بوجود قليل من هيدروكسيد الصوديوم وباستعمال درجات حرارة تزيد على 100°م. ويتكون نتيجة لذلك عديد الكلسيروول وذلك لفقدان الماء في أثناء التفاعل وفي الحقيقة فإن التسمية عديد الأثير أكثر دقة كما يتضح من تركيب الناتج:



ويكون الناتج في أعلاه ذا سلسلة تتراوح بين 2 و 12 وحدة كلسيروول. (2) يمكن زيادة الخاصية الكارهة للماء لهذه المركبات بأسترتها مع الحوامض الدهنية H=R أو حامض دهني.



تحضر هذه الاسترات بتفاعل حامض دهني مع المركب ثنائي الهيدروكسيل
: 1.2- Propylene glycol



تستعمل هذه المركبات لتحضير مستحلبات ماء/ زيت. وعند تناولها تتحلل مائياً في القناة الهضمية إلى حوامض دهنية تمتص من الأمعاء أما المركب propylene glycol فيتم اطراحه عن طريق البول.

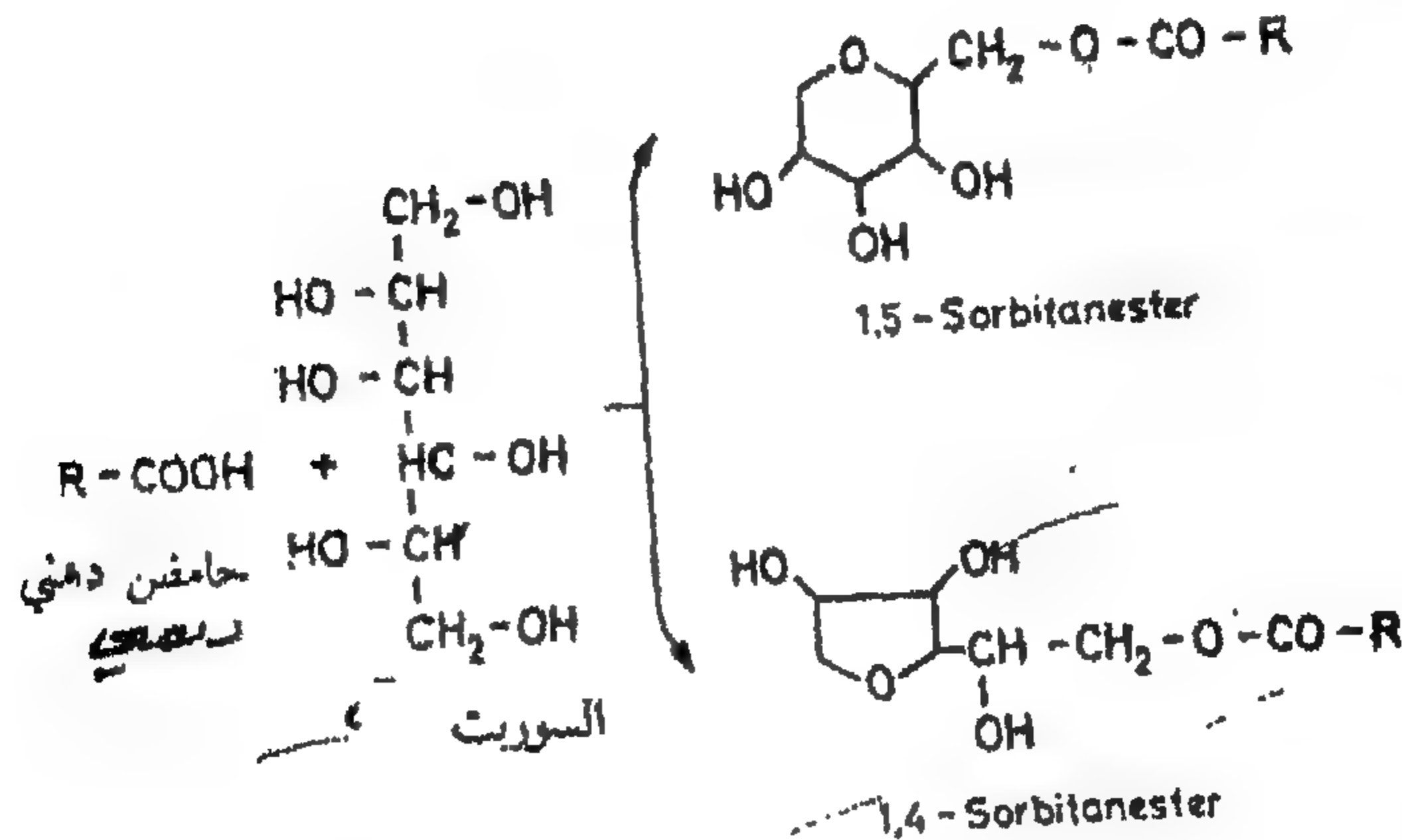
و- Sugar fatty acid ester

تتكون استرات السكريات مع الحوامض الدهنية نتيجة لتفاعل السكر (السكروز أو اللاكتوز) مع الحوامض الدهنية وكمثال:

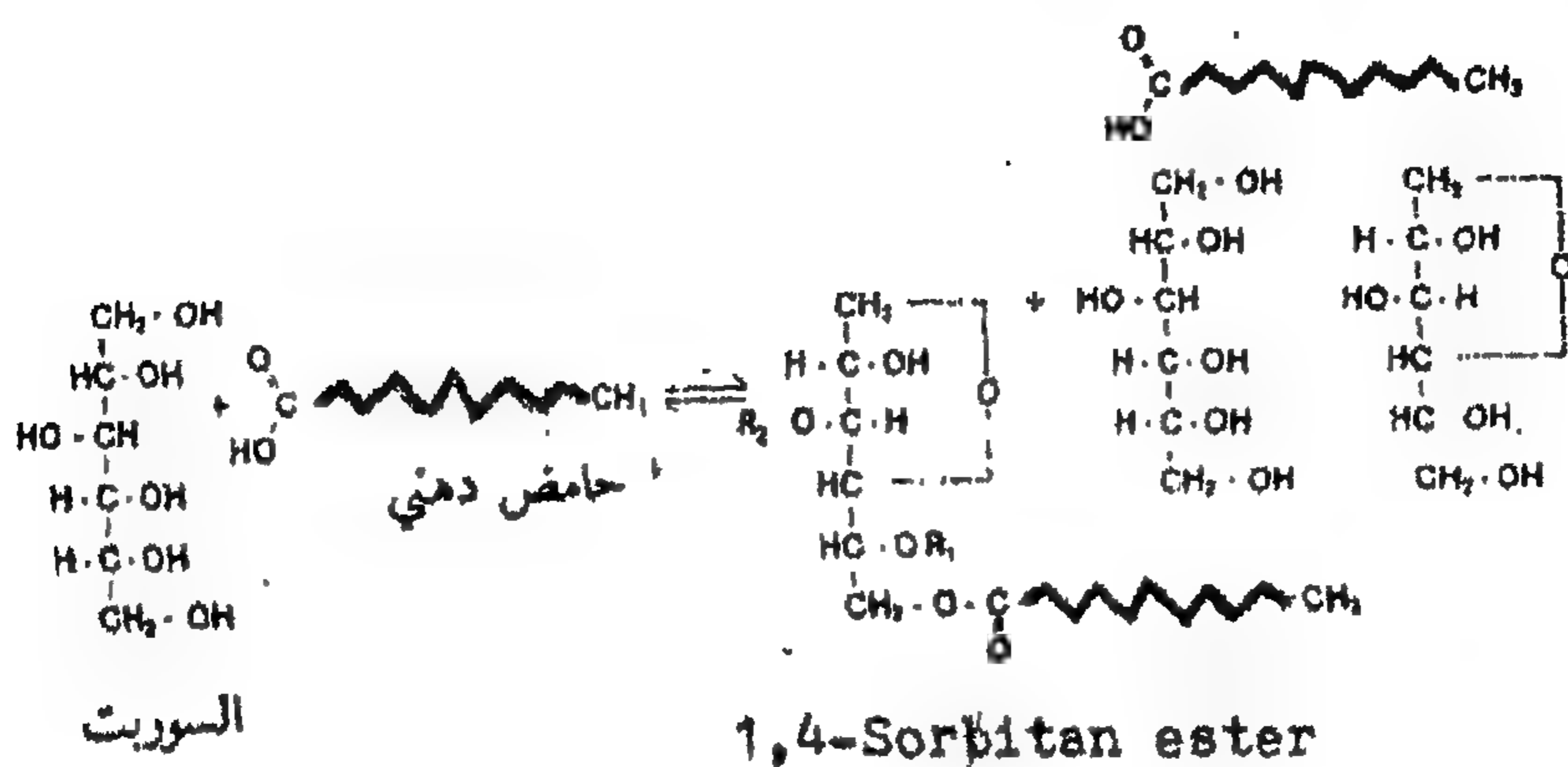
0 : 14 أو 0:16 أو 0:18 بوجود عامل مساعد أن هذه المركبات قابلة للتحلل المائي في الجسم وليس لها تأثيرات جانبية وتكون عديمة الطعم والرائحة كما تمتلك مدى واسعاً لقيمة HLB يتراوح بين 7-13 وتستخدم عادة لتثبيت مستحلب (زيت/ماء).

ز- Sorbitan fatty acid ester

يتكون استر السوربيتان للحامض الدهني عند تسخين السوربيت Sorbit مع الحوامض الدهنية بوجود هيدروكسيد الصوديوم أو حامض الكبريتيك وبدرجة حرارة (180-250°م) ونتيجة للتفاعل يتكون المركبان Sorbitan ester-1.4 أو Sorbitan ester-1.5..



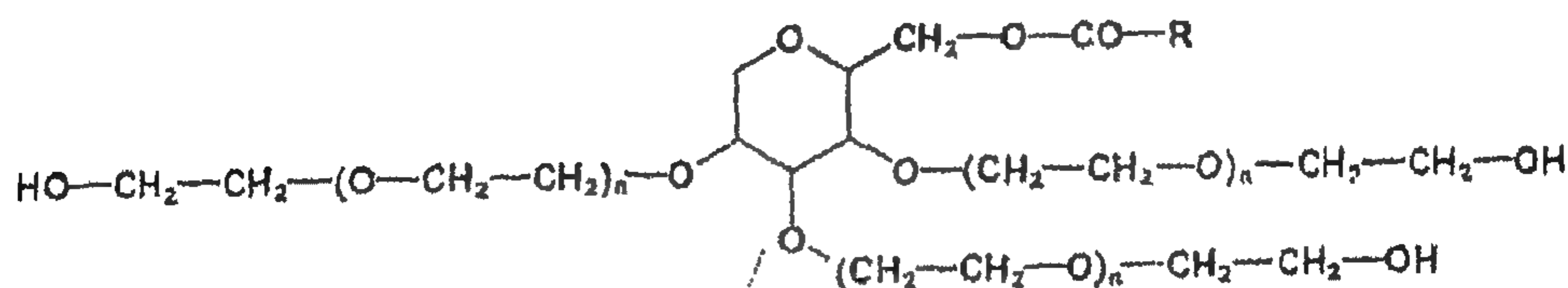
ويمكن توضيح التفاعل بشكل آخر وكما يأتي:



H- R₂ و R₁

ج- Polyoxyethylene- Sorbitan acid ester

يمكن زيادة الخاصية المحبة للماء (الهيدروفيلية) لعامل الإستحلاب Sorbitan fatty acid ester وذلك بإدخال مجموعات polyoxyethylene ويكون بذلك المركب الآتي:



ويستخدم هذا المركب لتثبيت مستحلب الزيت في الماء (زيت / ماء).

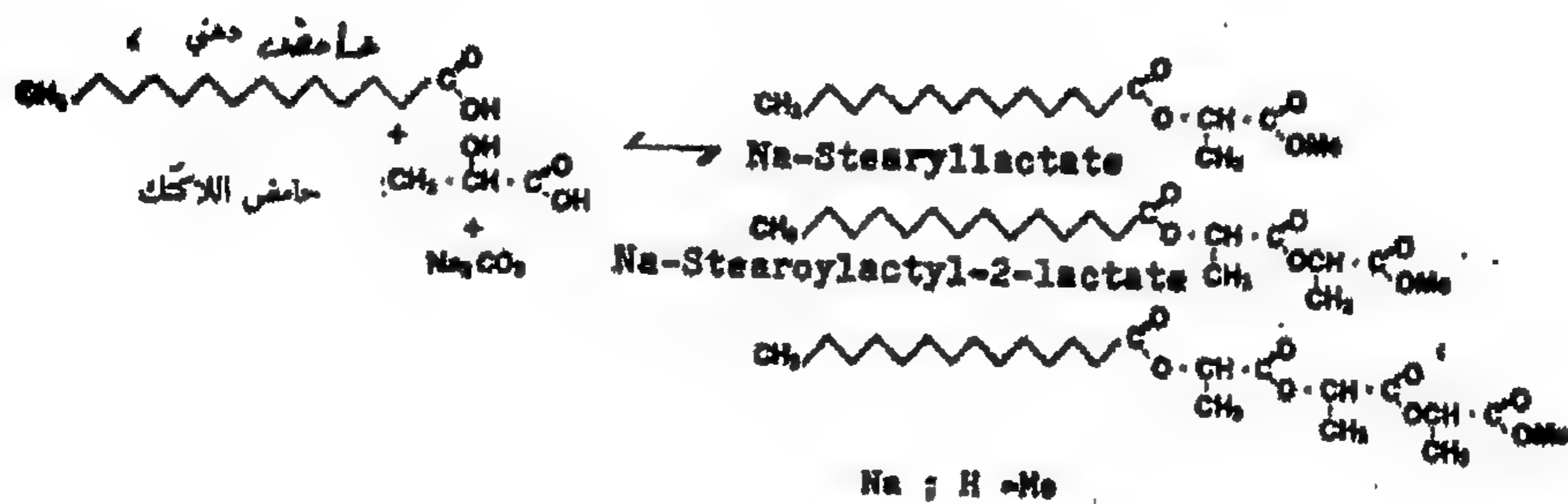
ط. Sodium stearylactyl-2- lactate

هذه الأنواع من المركبات استرات لحامض اللاكتك او عديد حامض اللاكتك Polyactic acid مع الحوامض الدهنية المشبعة.

يتم تحضير هذه المركبات بأسترة الحوامض الدهنية مع حامض اللاكتيك بوجود قاعدة مثل Na_2CO_3 وتحصل الأسترة بتفاعل الهيدروكسيل لحامض اللاكتيك مع مجموعة الكاربوكسيل للحامض الدهني وبذلك ينتج أسيل حامض اللاكتيك Acylactic ويسمى الناتج Stearoyl lactic.

ويمكن لمجموعة الكاربوكسيل في ثمالة حامض اللاكتيك أن تتفاعل مع مجموعة الهيدروكسيل لجزيئة حامض لاكتيك أخرى ويتكون نتيجة لذلك Stearoyl polyactic acid وهكذا يتصرف حامض اللاكتيك تارة بمثابة كحول وأخرى حامض لتكوين الأسترات.

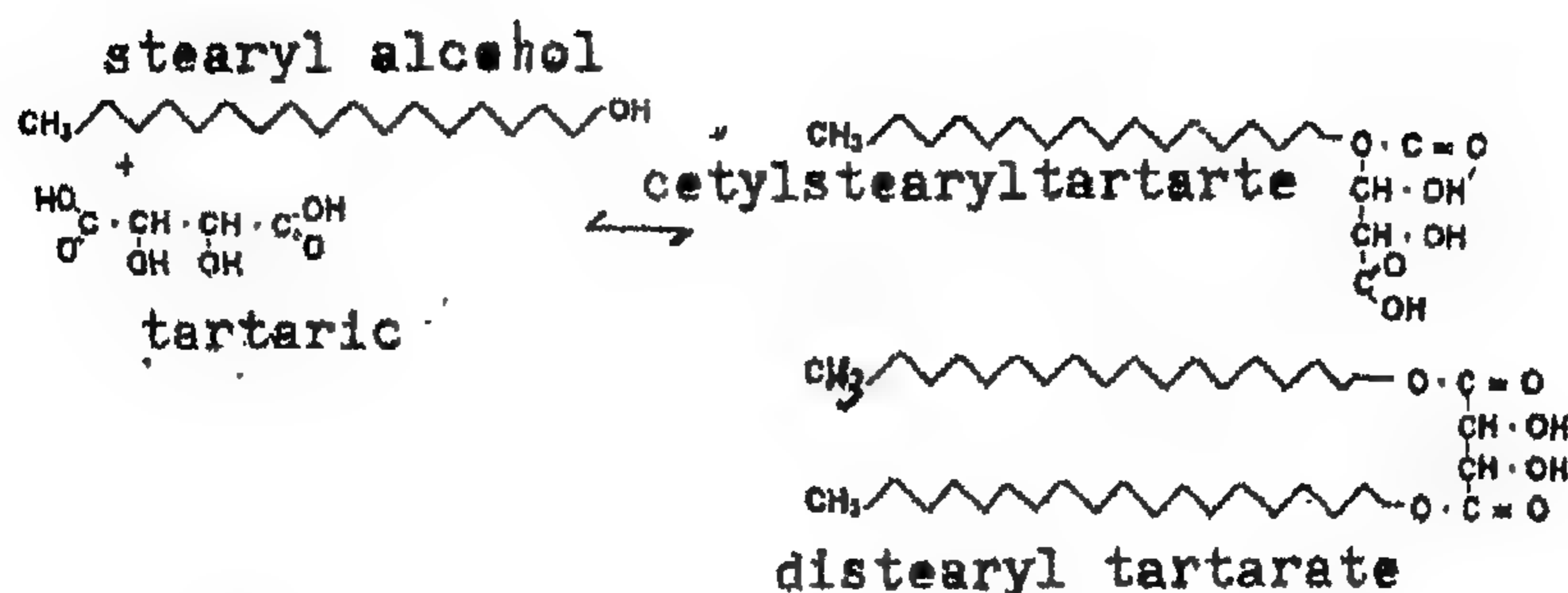
تظهر نواتج التفاعل بشكل حامض أو ملح وكما يأتي:



وتستخدم هذه المركبات لتثبيت مستحلبات الزيت في ماء.

ي. Stearyl tartarate

إن هذا المركب استر الكحول الدهني المشبع مع حامض التارتريك وتطلق التسمية Stearyl على ثمالة الكحول الدهني المشبع المشتق من حامض الستيارك الحاوي على 18 ذرة كربون. وتدعى هذه المركبات أحياناً Cetylstearyl tartarate وهي أكثر دقة من التسمية القديمة Stearyl tartarate. تحضر هذه المركبات بأسترة حامض التارتريك مع Stearyl alcohol.



ويتكون نتيجة لذلك Monostearyl tartarate و Distearyl tartarate وتمتص هذه المركبات عادة من الأمعاء بكميات قليلة جدا.

14-13-4 طبيعة التأثيرات بين عوامل الاستحلاب ومكونات الغذاء المختلفة :

وضحنا فيما تقدم أمثلة عديدة لعوامل استحلاب يمكن استخدامها في الأغذية وسنوضح فيما يلي طبيعة التأثيرات بين عوامل الاستحلاب والمكونات الغذائية.

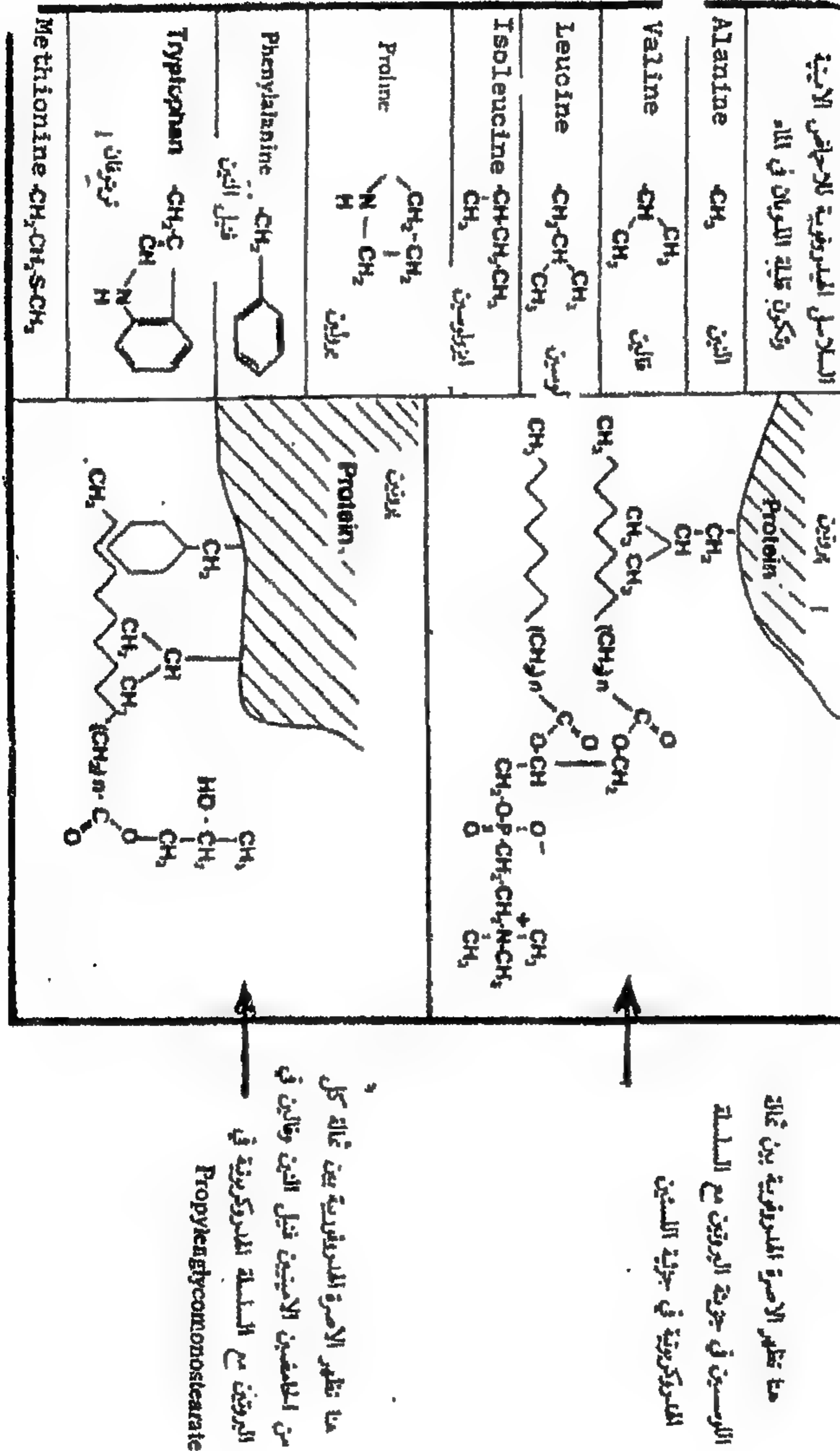
أ- التأثيرات بين عوامل الاستحلاب والبروتينات

Interaction between emulsifiers and proteins

1- التأثيرات الكارهة للماء (الهيدروفوبية) بين البروتين وعامل الاستحلاب وتحصل بين مجموعات السلاسل الجانبية للأحماض الأمينية المكونة للبروتين من جهة والسلسلة الهيدروكربونية لعامل الاستحلاب من جهة أخرى وتحصل هذه التأثيرات في المحيط المائي حيث تتجه المجموعات الكارهة للماء لكل من عامل الاستحلاب والبروتين بعضها إلى بعض ونتيجة لذلك تحجب هذه المجموعات نفسها عن الماء فيما تكون المجموعات القطبية لعامل الاستحلاب على سطح الجسيمات المذيلات Micelles المتكونة شكل 4-3.

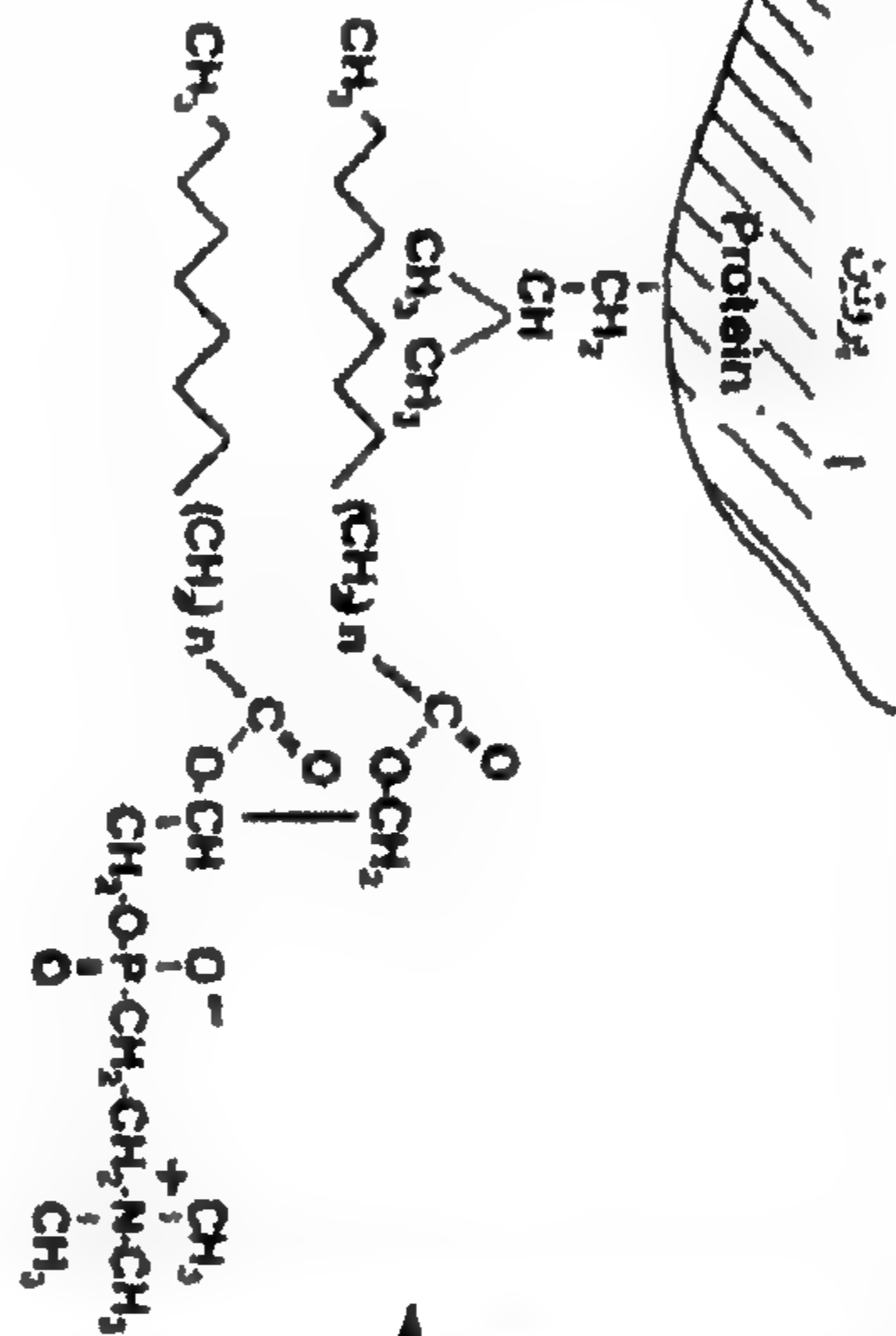
2- التأثيرات الهيدروجينية بين عامل الاستحلاب والبروتين: تتأثر السلاسل الجانبية القطبية غير المشحونة للبروتينات مع المجموعة المحبة للماء في عامل الاستحلاب مكونة أواصر هيدروجينية كما في الشكل (4-4). أما السلاسل الهيدروكربونية لعامل الاستحلاب فتتجه نحو سطح المذيلة Micelle

3- التأثيرات الكهروستاتية Electrostatic بين عامل الإستحلاب والبروتين:
يوضح الشكل 4-5 التأثيرات بين السلاسل الجانبية المشحونة في البروتين والشحنات المخالفة لها في جزيئة عامل الإستحلاب.

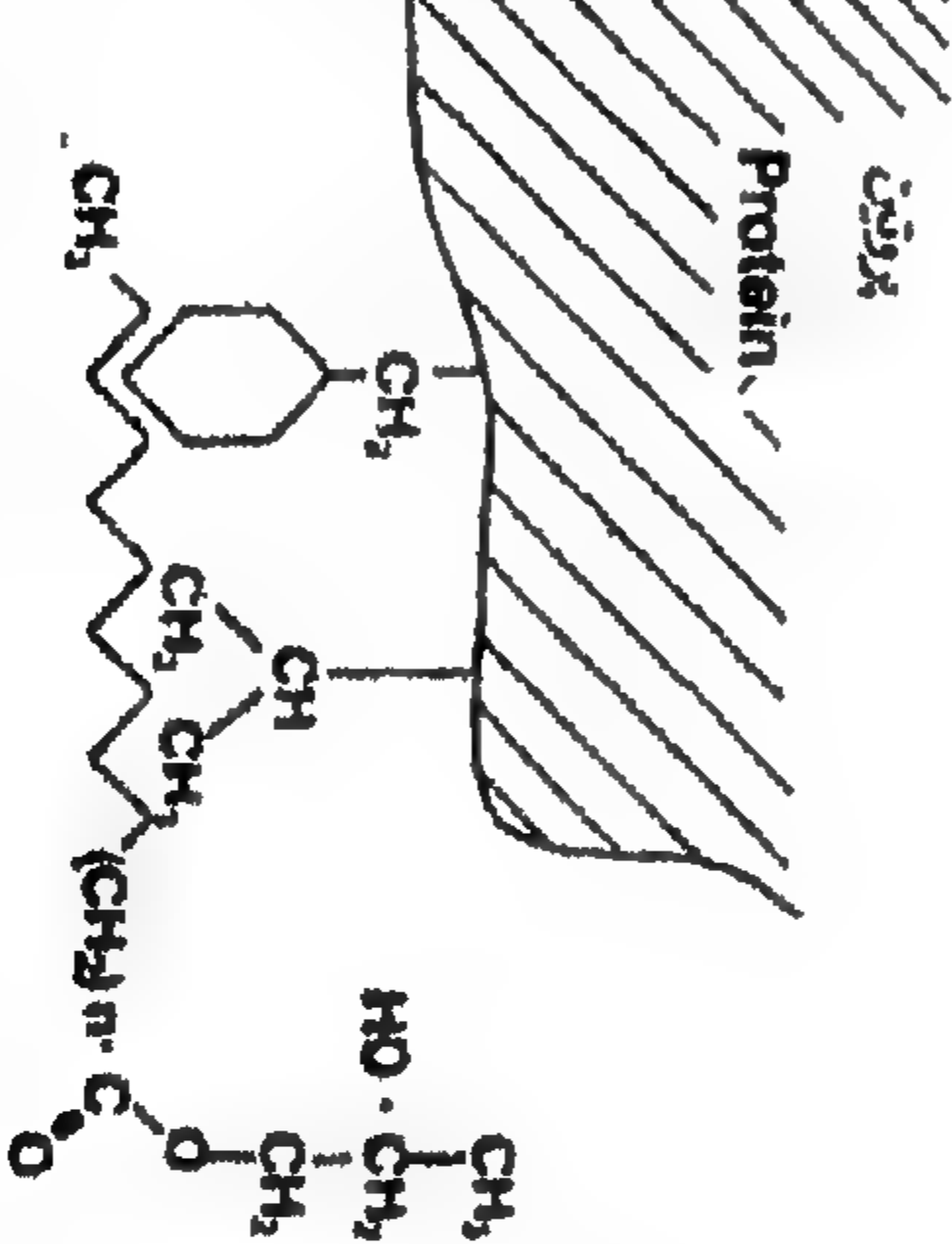


شكل (4-3) التأثيرات الكارهة الماء بين البروتين وعامل الاستحلاب.

السلاسل المبدروغوية للأحماض الأمينية وتكون طيلة الدوران في الماء	
Alanine -CH ₃ ألانين	
Valine $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ فالين	
Leucine $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \text{ CH}_3 \\ \quad \\ \text{CH} \text{ CH} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \text{ CH}_3 \end{array}$ لوسين	
Isoleucine $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH} \text{ CH}_2 \text{ CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ إيزولوسين	
Proline $\begin{array}{c} \text{CH}_2 \text{ CH}_2 \\ \quad \\ \text{N} \text{ CH}_2 \\ \\ \text{H} \end{array}$ بروتين	
Phenylalanine $\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$ فيل ألانين	
Tryptophan $\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2 \end{array}$ تريبتوفان	
Methionine $\text{CH}_2 \text{ CH}_2 \text{ S CH}_3$	






هنا تظهر الأصرة المبدروغوية بين عمالة
البروتين في جزيئة البروتين مع السلسلة
المبدروغوية في جزيئة اللوسين



هنا تظهر الأصرة المبدروغوية بين عمالة كل
من الحامضين الأميين فيل ألانين وفالين في
البروتين مع السلسلة المبدروغوية في
Propylenglycomonostearate

شكل (4-4) التأثيرات الهيدروجينية بين عامل الاستحلاب والبروتين.

الاحماض الاربعة ثبات. السلاسل الجانبية الغنية غير النشطة	
Glycine . H	
Serine . CH ₂ OH	
Threonine . CH(CH ₃)OH	
Cysteine . CH ₂ SH	
Tyrosine . CH ₂ - 	
Asparagine . CH ₂ - 	
Glutamine . CH ₂ -CH ₂ - 	

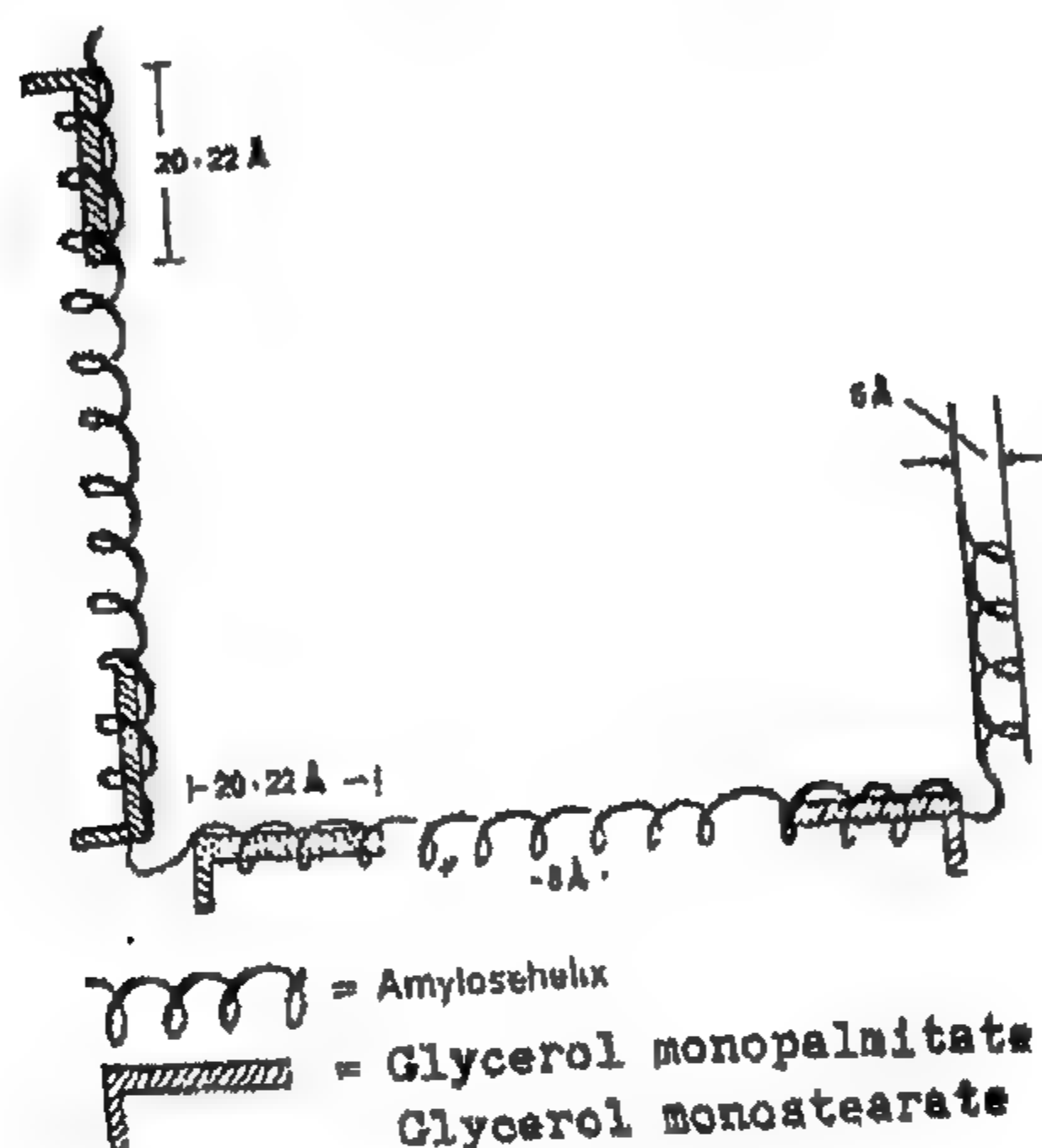
الأصرة الكهروستاتيكية بين فضالة
الأرجنتين في وعامل الاستحلاب.
الأصرة الكهروستاتيكية بين فضالة
الأسبارجين في البروتين والشحم
الفسفاتي (عامل الاستحلاب) من
خلال أيونات الكالسيوم.

شكل (4-5) التأثيرات الكهروستاتيكية بين عامل الاستحلاب والبروتين

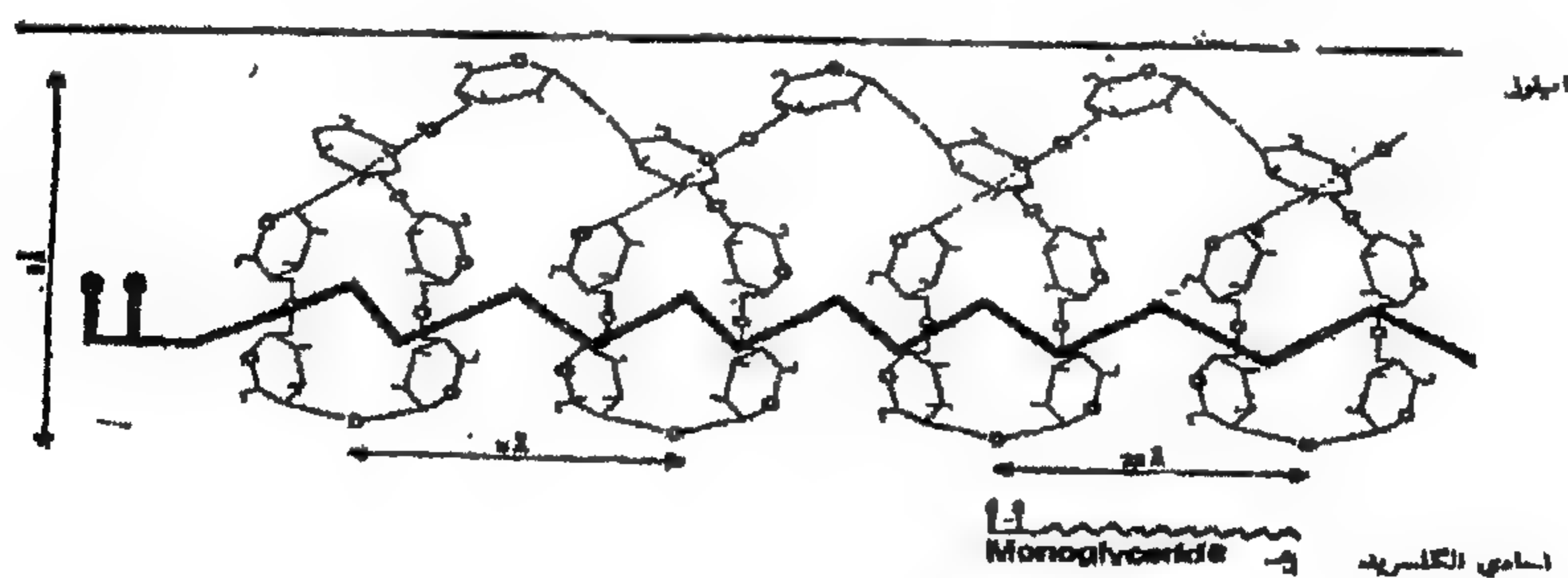
ب- التأثيرات بين الكربوهيدرات وعوامل الإستحلاب

لا تمتلك احاديات وقليلات السكريد جيدة الذوبان في الماء، مناطق
كارهة للماء ولهذا لا يتوقع أي تأثير هيدروفوبي لهذه المركبات مع عوامل
الإستحلاب. أما عديدات السكريد فعلى العكس من ذلك تمتلك مناطق كارهة
للماء ولهذا تلعب دورا كبيرا في الأغذية.

يتخذ الاميلوز مثلاً بتأثير الماء تركيباً لولبياً يسمى اللولب - ألفا (α -Helix)، وبالتالي فإن الجزء الداخلي لهذا اللولب يمتلك صفة كارهة للماء Hydrophobic. وتستطيع عوامل الإستحلاب لذلك التأثير مع الجزء الداخلي في اللولب - ألفا للاميلوز وتكون معه أواصر هيدروفوبية كما في الشكل 4-6 الذي يبين التأثيرات بين أحادي الكلاسيريد والاميلوز ويمكن توضيح الشكل 4-6 بالمخطط الآتي:



شكل (4-6) التأثير الهيدروفوبي (كاره الماء) بين الأميلوز وعوامل الاستحلاب Glycerol monopalmitate و Glycerol monooleate.

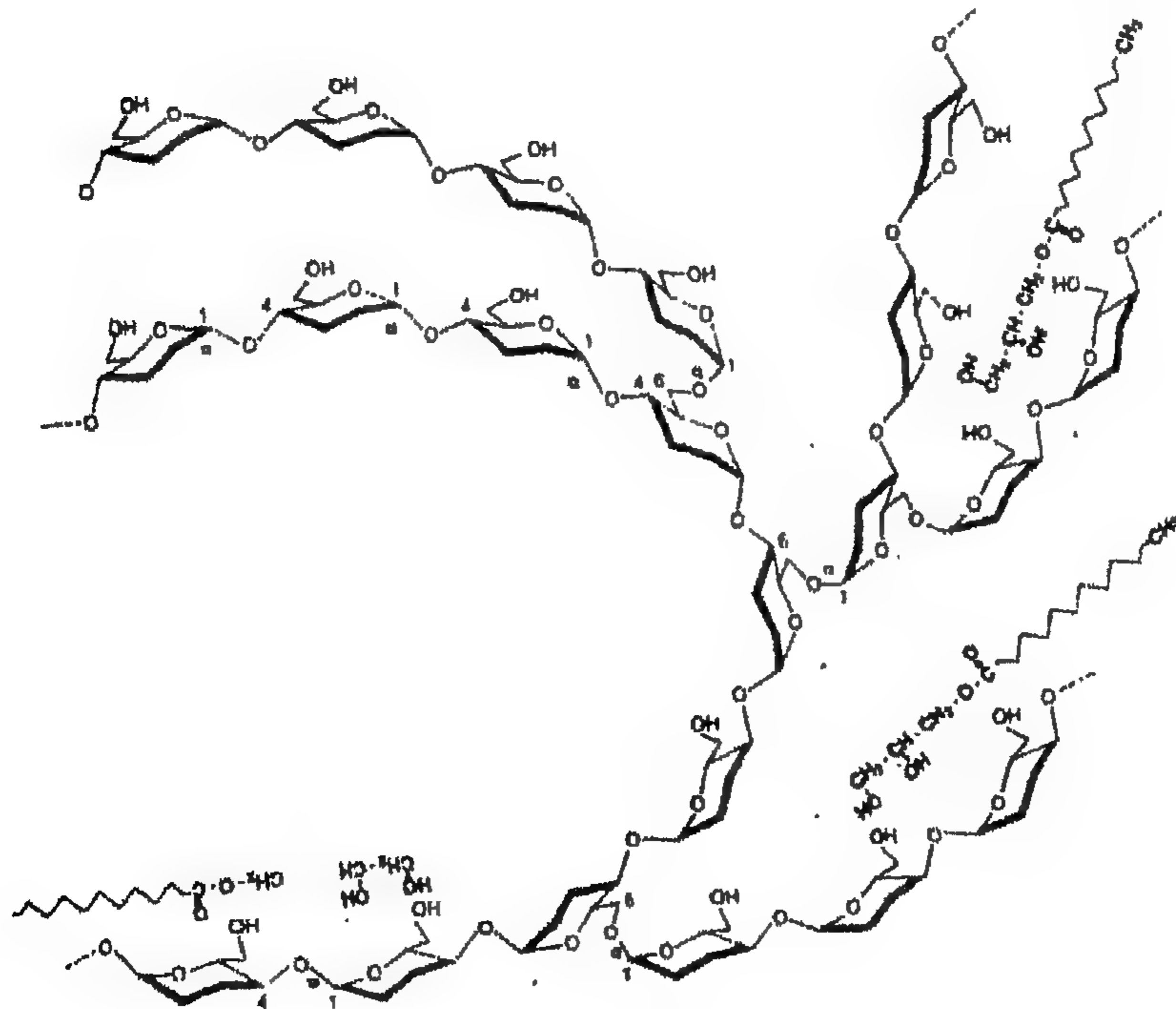


ينفصل الاميلوز من محلوله ويترسب بعد فترة زمنية من تحضير المحلول الطازج ويعود السبب في ذلك إلى انفتاح اللولب - ألفا واتخاذ الجزيئة شكلاً مستقيماً وتسمى هذه الظاهرة التردى Retrogradation. تقترب الجزيئات المستقيمة من بعضها وتصبح بشكل مذيلات غير ذائبة كما هي الحال مع السليلوز غير الذائب. ولا يمكن إرجاع

جزيئات الإميلوز إلى شكلها اللولبي بالتسخين، ويمكن تأخير عملية التردّي Retrogradation أو منعها كلية بإضافة بعض المواد مثل أحاديّات الكلوريد حيث يتكون معقد أشبه ما يكون بهيئة القفل والمفتاح كما في المخطط أعلاه. إن تكوني هذه المعقد يمنع تحول الشكل اللولبي للإميلوز إلى شكل مستقيم. إن عملية التردّي هي إحدى الأسباب التي تجعل الخبز أو الصمون بحالة صلبة بعد فترة قصيرة من الخزن ولقد عرف منذ زمن طويل بأن إضافة الدهن للمعجنات والخبز يؤدي إلى بقائها لفترة أطول بحالة طازجة والسبب يعود إلى تكوين المعقد المذكور بين الدهن والإميلوز.

ب. التأثيرات بين عوامل الاستحلاب والكربوهيدرات بواسطة الأواصر الهيدروجينية:

يمكن توضيح هذه الأواصر بين الأجزاء المحبة للماء في جزيئة الأميلوبكتين وعامل الاستحلاب كما في الشكل (4-7).



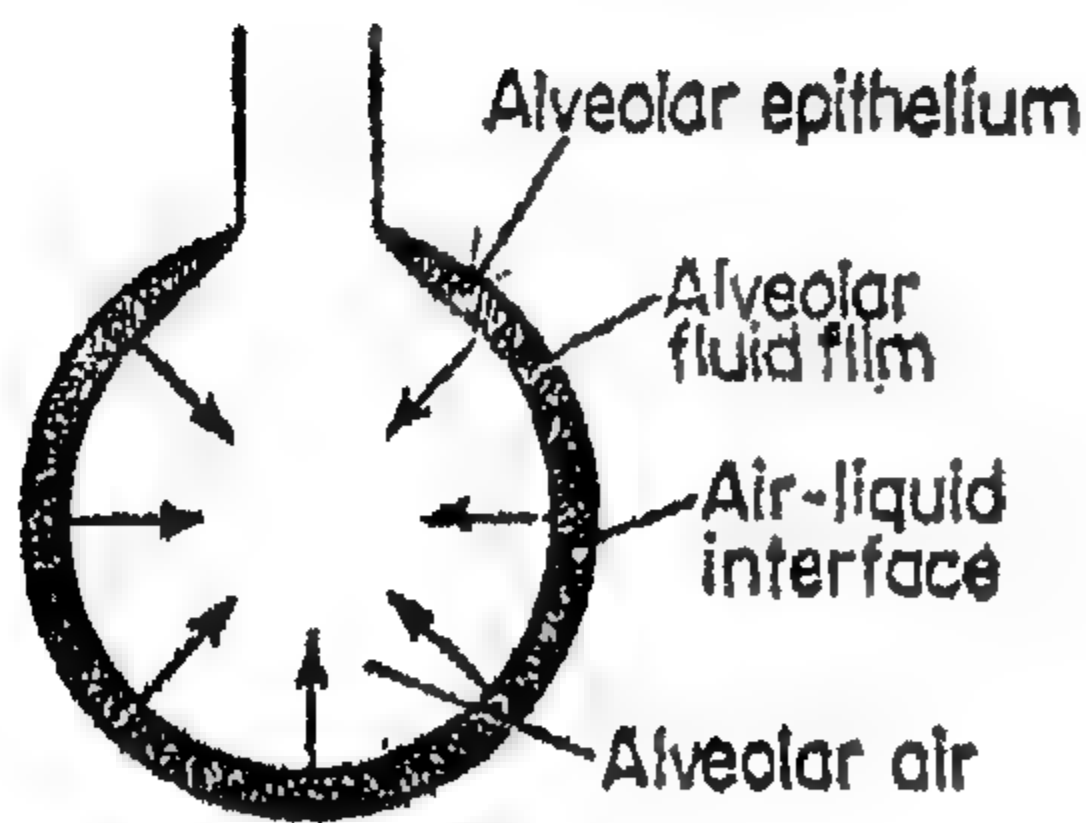
شكل (4-7) التأثير بين عامل الاستحلاب والأميلوبكتين بواسطة الأواصر الهيدروجينية.

13-5 دور املاح الصفراء بوصفها عوامل إستحلاب في الأمعاء الدقيقة :

تخفض أملاح الصفراء التوتر السطحي لقطيرات الدهن في المعى الإثني عشر وبذلك توتر السطح البيني Interfacial بين الشحم والأطوار المائية كذلك وهذا يجعل القطيرات الصغيرة تتساب خارج سطح قطيرات الدهن الكبيرة مكونة مستحلباً ثابتاً في الماء.

4-13-6 دور عوامل الاستحلاب في الرئة :

تحدد مطاوعة الرئة أو قابلية تمددها Compliance, Strechability بالشد السطحي للسائل المغلف للسطوح الداخلية للحويصلات الرئوية. إن الشد السطحي لهذا السائل يميل إلى إقلال مساحة السطوح الداخلية للحويصلات وذلك بسحب جدران الحويصلات مع طبقة السائل الملتصق بها تجاه تجويف الحويصلة (شكل 4-8). إن هذا يزيد من قابلية الرئتين للإرتداد Recoil من الجدار الصدري Thoracide wall كما يبقى الرئتين بحالة إنخماص عندما يكون الجنين في الرحم. أما ما بعد الولادة، فإن الغشاء المخاطي للحويصلات يفرز عاملاً فعالاً في السطوح وهو بروتين شحمي بطبيعته ويحتوي Dipalmitoyl phosphatidylcholine



الغشاء المخاطي للحويصلات
طبقة السائل الملتصق بالحويصلات
السطح البيني هواء - سائل
هواء الحويصلات

شكل (4-8) الشد السطحي لطبقة السائل الملتصق بالحويصلة الرئوية يسحب جدران الحويصلات وتميل الحويصلات لذلك للإنخماص Collapse.

وتوجد جزيئاته بتركيز أكبر على السطح الحر لطبقة السائل المتصق بالحويصلات مؤدية إلى خفض شدها السطحي وهذا يمنع إنخماص الحويصلات الرئوية. فعند الزفير، تفرغ الحويصلات من الهواء ويقل قطرها وبذلك تقترب جزيئات العامل الفعال في السطوح Surfactant من بعضها وحيث تكون موجودة في السطح البيني هواء-سائل، تؤدي إلى خفض الشد السطحي لطبقة السائل المتصقة بالحويصلات مانعة بذلك انخماص الرئتين وهي في حالة الزفير. وعند الشهيق تنتفخ الرئتان وتمتد طبقة السائل المتصقة بالحويصلات مما يؤدي إلى تباعد جزيئات العامل الفعال في السطوح عن بعضها مما يقلل من تأثيرها أي أن الشد السطحي للسائل يزداد مما يساعد في الإرتداد المطاطي للرئتين في حالة الشهيق.

4-13-7 استخدام عوامل الإستحلاب لتكوين الجسيمات الشحمية Liposomes :

يمكن استخدام عوامل الإستحلاب لتكوين مذيئات Micelles تضم في داخلها عقاقير أو أنزيمات وتسمى هذه الجسيمات بالجسيمات الشحمية. إذ أن من أهم المواقف في استخدام العلاج الكيميائي عدم تخصص العقار في عمله على نسيج معين حيث أن العقار المتناول عن طريق الفم أو المزروق في الوريد ينتشر في أنسجة الجسم المختلفة ولا يتركز في النسيج الهدف وهذا أساس السمية في أحيان كثيرة. إضافة إلى ذلك فأن بعض العقاقير تكون عرضة للعمليات الأيضية بحيث يكون نصف عمرها - بالصيغة الفعالة - قصيراً نسبياً. ولقد استخدمت الجسيمات الشحمية الحاوية على العقاقير أو الأنزيمات وسائط لنقل هذه المواد إلى الأنسجة الهدف.

إن الجسيمات الشحمية المحضرة من الشحوم الفسفورية والكلولسترول غير سامة وقابلة للتحلل الحيوي Biodegradable.

ولقد جرت محاولات عديدة لتحضير جسيمات شحمية تؤدي مفعولها في أنسجة مستهدفة محددة. كما أن هذه الجسيمات تطيل من مفعول العقاقير المحفوظة Encapsulated فيها ومن المؤمل أن يواكب التقدم في معرفتنا لتركيب وكيمياء الأغشية الحيوية، تحضير جسيمات شحمية ذات درجة عالمية من التخصص بحيث يمكن إستخدامها لنقل العقاقير وحتى إستبدال بعض الأنزيمات في أنسجة مستهدفة.

14-4 المصادر المعتمدة

1. Schuster, G. Adams. W. Zeitschrift fur Lebensm. Techn. U. Verfahrenstechik Emulgatoren als Zusatzstoffe fur Lebensmittle, 4, 1981.
2. Schuster, G. Adams, W. Zeitschrift fur Lebensm. Techn. U. Verfahrenstechik Emulgatoren als Zusatzstoffe fur Lebensmittle, 2,1981.
3. Schuster, G. Adams, W. IBID. 7,1982.
4. IBID.1. 1984.
5. Debajyoti Das. Biophysics and Biophysical chemistry Academic publishers. Calcutta. New Delhi, 1982.
6. Belitz. H.D. Grosch. W. Lehrbuch der Lebensmittel chemie, Zweiteauflage, Springer- Verlag, 1985.
- 7.Devlin, T.M. Textbook of Biochemistry with clinical correlations, 2nd edn. Wiley Medical publication, New York. Chichester. 1986.
8. Conn. E.E. Stumpf. P.K. Bruening, G. & Doi, R.H. Outlines of Biochemistry, 5/E. John Wiley & Sons. New York. Chichoster, 1987.

قائمة بالأشكال

- شكل 1-1 سرعة فقدان نشاط الثيامين في القيم المختلفة للرقم الهيدروجيني.
- شكل 2-1 نقل هيدروجين مجموعة الميثاين من المركب Hgdroxyethyl thiamine pyrophosphate إلى FAD.
- شكل 3-1 مخطط يوضح تأثير تشيع الريبوفلافين في محاليله الحامضية والقاعدية.
- شكل 4-1 طيف الإمتصاص للتميمات الأنزيمية FMN و FAD بصيغتها المختزلة والمؤكسدة.
- شكل 5-1 الآلية المقترحة لعمل الأنزيم Dihydroorotate dehydrogenase.
- شكل 6-1 المخطط المقترح لتخليق الريبوفلافين في البكتريا E.coli والخميرة والعفن.
- شكل 7-1 تركيب التميمين الأنزيمين NAD^+ و $NADP^+$.
- شكل 8-1 طيف الامتصاص في المنطقة فوق البنفسجية للـ NAD^+ و $NADH$.
- شكل 9-1 تخليق التميمين الأنزيمين NAD^+ و $NADP^+$ من الحامض الأميني تريتوفان.
- شكل 10-1 طيف الإمتصاص لفسفات البريدوكسال وفسفات البريدوكسامين في المنطقة فوق البنفسجية.
- شكل 11-1 أنماط التفاعلات المحفزة بالأنزيمات المستخدمة لفسفات البريدوكسال.
- شكل 12-1 تميم الأنزيم B^{12} .

شكل 1-13 الخطوات الرئيسية في تخليق حامض الإسكوريك ابتداء من حامض الكلوكيرونك.

شكل 1-14 التركيب الصناعي لفيتامين C (L-ascbic acid) ابتداء من الكلوكوز.

شكل 1-15 المتناظرات الفراغية لحامض الإسكوريك.

شكل 1-16 تفكك حامض الإسكوريك وعلاقته بالرقم الهيدروجيني.

شكل 1-17 أكسدة حامض الإسكوريك.

شكل 1-18 التغيرات في سرعة أكسدة حامض الإسكوريك مع تركيز أيونات الهيدروجين بوجود a وعدم وجود b أيونات النحاس.

شكل 1-19 فقدان حامض الإسكوريك عند طبخ اللهانة.

شكل 1-20 فقدان حامض الإسكوريك في الفاصوليا الخضراء عند السلق.

شكل 1-21 نظام الأكسدة والإختزال العكوس لحامض الإسكوريك بوجود الكلوتاثيون.

شكل 1-22 المسلك المقترح لتخليق البيوتين في البكتريا E.coli وكائنات أخرى.

شكل 1-23 الآلية المقترحة لتفاعلات الكربوكسلة المحفزة بأنزيمات الكربوكلاز المعتمدة على البيوتين Biotin carboxylases.

شكل 1-24 المخطط العام لتخليق حامض الفولك. PPP: ثلاثي الفسفات، PP: ثنائي فسفات.

شكل 1-25 تحولات الوحدات أحادية الكربون المرتبطة برياعي هيدرو حامض الفولك.

شكل 1-26 مشتقات رباعي هيدرو حامض الفولك THF بمثابة حوامل لوحدات أحادية الكربون في تفاعلات التخليق.

شكل 1-27 دور الإستيل تميم الأنزيم A كمركب نيوكليوفيلي والكثروفيلى.
شكل 1-28 ارتبط المركب phosphopantetheine-4 بثمانية سرين للبروتين الناقل للاسيل.

شكل 1-29 تخليق حامض البنتوثيك في خميرة الخبز إبتداء من الحامض X- ketoisovaleric acid

شكل 1-30 تحضير β - Ionone صناعياً إبتداء من الاستون.

شكل 1-31 تحضير استات فيتامين A خلال الالدهيد بيتا- C-14

شكل 1-32 التخليق الحيوي للكاروتينات

شكل 1-33 دور فيتامين A في دورة النظر

شكل 1-34 تكوين فيتامين D^2 وفيتامين D^3 من تشيع dehydrocholesterol و Ergosterol على التوالي.

شكل 1-35 التفاعلات الأيضية التي تشتمل على فيتامين D^3 ومواقع تنظيمها

شكل 1-36 المسالك المحتملة لتكوين التوكوفيرولات في الفاصوليا.

شكل 1-37 التخليق الحيوي لفيتامين K

شكل 2-1 مخطط لتمثيل فرضية القفل والمفتاح للعالم Emil Fisher التي تصف تأثير الأنزيم والركيزة لتكوين معقد "أنزيم-ركيزة"

شكل 2-2 العلاقة بين تراكيز الركيزة (S) والسرعة الأولية للتفاعل الأنزيمي.

شكل 2-3 صور في المجهر الضوئي لأنزيمات بلورية

شكل 2-4 سيماء التفاعل الأنزيمي مقارنة بالتفاعل غير المحفز

إلى

شكل 2-5 تحول المركب Catechol بـ Hydroxymuconatesemialdehyde بفعل الأنزيم Catechol 2,3- oxygenase

شكل 2-6 الفعالتان التحفيزيتان Catecholase و Monophenolase لأنزيمات O-Diphenol oxidase

شكل 2-7 تكوين الميلانين بني اللون من الحامض الأميني تيروسين نتيجة لفعل أنزيمات ال Phenolase (O-Diphenol oxidase)

شكل 2-8 الآلية المقترحة لأكسدة مركبات o-Diphenol بواسطة الأنزيم phenol oxidase Poly

شكل 2-9 تأثير الرقم الهيدروجيني (PH) في نشاط الأنزيم ال Phenolase

شكل 2-10 المعقدات المتكونة بين النحاس- الموجود في الموقع النشط لأنزيم ال phenolase وحامض الستريك.

شكل 2-11 تأثير SO_2 التثبيطي لنشاط الأنزيم phenolase

شكل 2-12 تأثير ملح الطعام (NaCl) في أكسدة المركب chlorogenic acid من قبل أنزيم ال pheno lase المستخلص من التفاح.

شكل 2-13 تحول الزانثين والهيبوزانثين Hypoxanthine إلى حامض اليورك بفعل أنزيم اوكسداز الزانثين.

شكل 2-14 الفعالية التحفيزية لأوكسداز الزانثين. يوضح المخطط اختزال الأوكسجين الجزيئي بواسطة سلسلة لنقل الإلكترونات يسهم فيها المولبدنيوم وال FAD والحديد التي تشكل جزءاً من الأنزيم.

شكل 2-15 أكسدة β -D-Glucose بفعل الأنزيم اوكسداز الزانثين EFAD لاحظ دور المجموعة المرتبطة FAD في عملية التحفيز.

شكل 2-16 آلية عمل الأنزيم Ascorbate oxidase في تحويل حامض الإسكوريك إلى dehydroascorbic ودور أيون النحاس في الموقع النشط.

شكل 2-17 تكوين معقدات مغلبيية بين النحاس والكلاليسين وبين النحاس وال Quercitol

شكل 2-18 تركيب البروتوهيمين

شكل 2-19 طيف الإمتصاص لأنزيم البيروكسداز ومركباته المحرصة (II، I، III، البروكسيد، I، II)

شكل 2-20 التغيرات الكيميائية الناتجة عن اتحاد أنزيم البيروكسداز ببيروكسيد الهروجين.

شكل 2-21 آلية عمل الأنزيم البيروكسداز استناداً إلى نتائج التجارب العملية.

شكل 2-22 تركيب بعض ركائز أنزيم البيروكسداز والمستخدمة كمانحات للهروجين.

شكل 2-23 تفاعلات أنزيم الكاتالاز مع مانحات الهروجين.

شكل 2-24 تفاعلات أنزيم الكاتالاز بوجود بيروكسيد الهروجين وبعض المركبات الاروماتية مثل بايروكالول أو p-cresol

شكل 2-25 كآلية التحفيز بالأنزيم المؤكسج للشحوم Lipxygenase

شكل 2-26 خصوصية الأنزيم Lipxygenase-I تجاه الركيزة Linoleic acid

شكل 2-27 تفاعلات الأنزيم Lipxygenase-II

شكل 2-28 تأثير Mg^{+2} في مقعد الأنزيم- الركيزة

شكل 2-29 تحليل الكلسيريدات الثلاثية بفعل أنزيم الليباز المستخلص من الخنزير

شكل 2-30 النموذج المقترح لتفسير فعالية ليباز البنكرياس في الطور البيني شحم/ماء.

شكل 2-31 ترتيب عديد الببتيد في جزيئة الكيموتريسين

شكل 1-32 مواقع فعل الفسفوليپازات A_1 و A_2 و B و C و D

شكل 2-33 تثبيط أنزيم Pectinesterase البرتقال بوجود الأحماض المثبطة.

شكل 2-33 تثبيط أنزيم Pectinesterase البرتقال بوجود الأحماض المثبطة.

شكل 2-34 تركيب الكلوروفيل أ وب. في كلوروفيل أ. تكون مجموعة X مثل وفي كلوروفيل ب تكون (-CHO).

شكل 2-35 الآلية المقترحة للفعل التحفيزي لأنزيم الفسفاتاز القاعدي

شكل 2-36 هيئة الكرسي والزورق للمركب α -D-Glucose

شكل 2-37 تركيب الإميلوز والكلايكوجين والسيليلوز

شكل 2-38 العلاقة بين الفعالية الأنزيمية والرقم الهيدروجيني. (-) الأنزيم

α Glucosidase (...) الأنزيم β Fructofuranosidase

شكل 2-39 موقع مهاجمة الأنزيم α -Galactosidase والأنزيم β Fructofuranosidase للمركب رافنوز.

شكل 2-40 الآلية المقترحة للأنزيم β -Galaetosidase

شكل 2-41 تركيب ثلاثي السكر Melezitose Raffinose

شكل 2-42 تأثير أيونات الكالسيوم في ثبات الأنزيم α -Amylase

شكل 2-43 الآلية المقترحة لعمل الأنزيم α -Amylase

شكل 2-44 جزيئة الإميلوز ومواقع الهجوم الأولي لأنزيم α -Amylase

شكل 2-45 فعل أنزيم α -Amylase في الإميلوز والإميلوبكتين

شكل 2-46 الآلية المقترحة لأنزيم β -Amylase

شكل 2-47 مخطط يوضح فعالية الأنزيم بيتا-اميلاز في الإميلوز والاميلوبكتين

شكل 2-48 فعالية الأنزيم Glucoamylase في الإميلوز والاميلوبكتين

شكل 2-49 فعالية الأنزيم Inulase. يحلل الأنزيم الأواصر B-1-2-Fructan لجزيئة الانبولين من النهاية الحاوية على فركتوز مؤدياً إلى تحرير الفركتوز تباعاً حتى طرف السلسلة الآخر حيث تتحرر ثمالة الكلوكوز الطرفية.

شكل 2-50 الفعالية التحفيزية لكل من الأنزيمين Endopolygalactouronidase (exo PG) و Exopolygalactouronidase (endo PG) في البكتين

شكل 2-51 الفعالية التحفيزية لكل من الأنزيمين Endo PMG) و Endomethylpolygalactouronidase

و Exopolymethylgalactouronidase (exo PMG) في البكتين

شكل 2-52 تركيب α -N-benzoyl-L-argininamide و α -N-acetyl-L-tyrosinamide وهما ركيزتان للتريسين والكيমوتريسين على التوالي.

شكل 2-53 المواقع المفترضة الارتباط الركائز بالأنزيمات الفا-كيমوتريسين وتريسين وايلاستاز Elastase

شكل 2-54 مخطط يوضح تحول الكيموتريسينوجين البقري إلى بادي ودلتا والفا-كيমوتريسين H- S- and α -Chymotrypsin

شكل 2-55 تسلسل الأحماض الأمينية في الألفا-كيমوتريسين

شكل 2-56 مخطط مصوري مثل حياة السلاسل A و B و C

شكل 2-57 الآلية المقترحة لتفاعل محفز بأنزيم كيموتريسين

شكل 2-58 التركيب الأولي لأنزيم البابائين papain

شكل 2-59 التركيب الثانوي والثالثي لأنزيم البابين Papain

شكل 2-60 التركيب الثانوي والثالثي للكربوكسي بيتيداز A في ضوء دراسات حيود الأشعة السينية.

شكل 2-61 ارتباط الركيزة في الموقع النشط للأنزيم Carboxypeptidase

شكل 2-62 تحول الببسنوجين إلى ببسين

شكل 2-63 الآلية المقترحة للفعالية التحفيزية لأنزيم الببسين

شكل 3-1 مخطط عام للإختمار اللاهوائي

شكل 3-2 تركيب بعض أحاديات السكر سداسية الكربون

شكل 3-3 مسلك امدنم- مايرهوف- بارناس لتحلل السكر

شكل 3-4 فعل الكبريتيت في توجيه الإختمار لتكوين الكلسيرول عوضاً عن الإيثانول.

شكل 3-5 تقويض انتروودوروف للكلوكوز

شكل 3-6 الإختمار اللاكتيكي متغاير التخمر

شكل 3-7 تقويض الكلوكوز من خلال الفرقكتوز-6- فسفات في الإختمار اللاكتيكي متغاير التخمر كما حصل في Lactobacillus bifidus

شكل 3-8 مسلك فسفات البنتوز (PPP).

شكل 3-9 مخطط يوضح تكوين البيوتانول والإيزوبروبانول والإستون وحامض البيوترك في بعض أنواع الكلوستريديوم Clostridium

شكل 3-10 نواتج () الإنشطار المحفز لحامض البيروفيك في بعض أنواع الكلوستريديوم.

شكل 3-11 حركات الإختمار المنتج للبيوتانول والاستون

شكل 3-12 الاختمار الحامضي المختلط (الإختمار الاستوئيني)

شكل 3-13 الإختمار المنتج لحامض البيروفيك في جنس بكتريا حامض

البروبيونك Propionic acid bacteria

شكل 3-14 تحويل حامض البيروفيك إلى Acety CoA بواسطة المعقد متعدد الأنزيمات.

شكل 3-15 المسلك المحتمل للإختمار المنتج لحامض البروبيونك في البكتريا

Cl. Propionicum

شكل 3-16 تكوين الكحولات العليا من الأحماض الأمينية المناسبة.

شكل 3-17 تفاعلات نقل الامينو واسهام فسفات البيرويدوكسال فيها

شكل 3-18 النكوص اللاهوائي لحامض المالك بواسطة بكتريا حامض

اللاكتك وأنواع ال Schizsaccharomyces

شكل 3-19 النكوص اللاهوائي لحامض السترك في أنواع البكتريا حامض اللاكتك

شكل 3-20 المخطط المفترض لنكوص Degradation حامض التارتارك لاهوائياً.

شكل 3-21 تكوين الميثان من CO₂ أو ميثانول أو الخلايا بواسطة بكتريا الميثان.

شكل 3-22 الصيغ النشطة المختلفة لرباعي هيدرو حامض الفولك (THF) وتحولاتها ودورها في الإختمار المنتج للميثان.

شكل 3-23 خطوات التفاعل الإجمالي المحفز بالمعقد الأنزيمي

Pyruvate dehydrogenase complex

شكل 3-24 دورة حامض السترك (دورة كريبس)

شكل 3-25 النموذج المقترح لإرتباط السترات والفلوروسترات في الموقع النشط
للأنزيم Aconitase

شكل 3-26 آلية عمل الأنزيم Aconitase (آلية عجلة الحديدوز) في تحويل
السترات إلى الإيزوسترات.

شكل 3-27 آلية تحول Succinyl CoA إلى Succinate بفعل الأنزيم
Succinyl CoA Synthetase

3-29 نظام السايكرومات ومواقع تكوين المركب ATP (الفسفرة
التأكسدية).

3-30 اتجاه جريات الإلكترونات في السلسلة التنفسية وعلاقات جهود الاختزال
القياسية والتغير القياسي في الطاقة الحرة نتيجة لجريان
الإلكترونات.

شكل 3-31 بوابة فسفات الكليرول

شكل 3-32 أنظمة الأكسدة الداخلية Endoxidations

شكل 3-33 دورة الكلايكوكسيلات. إن السكسينات المتكونة زائدة عن
حاجة دورة حامض الستريك وتستخدم في التخليق الحيوي.

شكل 3-34 العلاقة بين استهلاك الأوكسجين وتكوين حامض الستريك وثاني
أوكسيد الكربون

شكل 3-35 آليات تثبيت ثاني أوكسيد الكربون

شكل 3-36 الاختمار المنتج لحامض الستريك في الفطر *Aspergillus niger*.

شكل 3-37 تأثير التراكيز المختلفة من $K_4Fe(CN)_6$ Hexacyanoferrate II
مقدرة بالغرامات/ لتر في سير الاختمار في المولاس

شكل 3-39 الإختمار المنتج لحامض الخليك

شكل 3-4 تكوين حامض الإسكوريك من الكلوكوز بواسطة الأحياء المجهرية

شكل 4-1 مستحلب (أ) ماء / زيت و(ب) زيت/ماء

شكل 4-2 آلية عمل المستحلبات (أ) الأيونية، (ب) المتعادلة

شكل 4-3 التأثيرات الكارهة للماء بين البروتين وعامل الإستحلاب

شكل 4-4 التأثيرات الكهروستاتية بين عامل الإستحلاب والبروتين

شكل 4-5 التأثير الهدروفوبي (كاره الماء) بين الإميلوز وعوامل الإستحلاب

شكل 4-6 التأثير بين عامل الإستحلاب والاميلوبكتين بواسطة الأواصر الهدروجينية.

شكل 4-7 الشد السطحي لطبقة السائل اللصق بالحويصة الرئوية يسحب جدران الحويصلات وتميل الحويصلات لذلك للانخماص.

قائمة بالجداول

- جدول 1-1 الفعالية الكيميائية الحياتية للفيتامينات
- جدول 2-1 تسمية الفيتامينات.
- جدول 3-1 محتوى الأغذية من بعض الفيتامينات. تمثل الأرقام ما موجود في 100 غم من الغذاء القابل للأكل.
- جدول 4-1 فقدان الثيامين عند تخزين الأغذية لمدة 12 شهراً.
- جدول 5-1 الأصناف الرئيسية للفلافو أنزيمات Flavoenzymes
- جدول 6-1 التفاعلات الرئيسية المتطلبية للتميمات NAD^+ أو $NADP^+$
- جدول 7-1 النواتج الطبيعية الموجودة في المواد الغذائية التي تعيق أكسدة حامض الإسكوريك المحفزة بالفلزات الثقيلة.
- جدول 8-1 قمم الإمتصاص للتوكوفيرولات في محلول الإيثانول
- جدول 9-1 كميات البروتينات والفيتامينات التي يوصى بتناولها يومياً
- جدول 10-1 الكميات المقترحة تناولها لبعض الفيتامينات يومياً.
- ج: 1-2 بعض الأنزيمات المستخدمة والمقترح استخدامها في الصناعات الغذائية
- جدول 2-2 الركائز المختلفة للأنزيم O-Diphenol oxidase والسرع النسبية لأكسدتها
- جدول 3-2 درجة النقاوة Rz لايزو انزيمات بيروكسيداز الفجل
- جدول 4-2 مصادر الأنزيمات المؤكسجة للشحوم Lipxygenases وبعض صفاتها.
- جدول 5-2 تكوين عديدات السكريد عن طريق نقل جزء الكلوكوسيل

جدول 2-6 الأصناف الثانوية لأنزيمات الهدرولاز تبعاً لطبيعة الأصرة التي تحفز تحليلها المائي.

جدول 2-7 توضيح لتخصص أنزيم الليباز البنكرياسي لموقع الأصرة التي يحفز تحليلها المائي.

جدول 2-8 التخصص للركيزة لأنزيم ال Achlhydrolase النقي من البطاطا

جدول 2-9 التخصص النسبي للركيزة لأنزيمات الفسفاتاز الحامضية من المصادر الثلاثة: الخميرة وكريات الدم الحمراء والبروستات.

جدول 2-10 النشاط النسبي لأنزيم الفسفاتاز القاعدي للبكتريا E.coli تجاه الركائز الفسفاتية المختلفة.

جدول 2-11 تصنيف وتخصص الكلايكوسيداز والكلايكانا

جدول 2-12 السرعة النسبية للتفاعلات المحفزة بأنزيم ال Maltase و α -Methylglucosidase بوجود الركائز المختلفة.

جدول 2-13 تسلسل الأحماض الأمينية حول ثمالات السريل Seryl والهستيديل Histidyl الجوهرية في الموقع النشط لعدد من الأنزيمات.

جدول 2-14 تسلسل الأحماض الأمينية حول مجاميع الإמידازل (لثمالة الهستدين) والسلفهديريل الجوهرية لعدد من بروتيازات السلفهديريل Sulphydryl proteases.

جدول 2-15 بعض خصائص البروتيازات.

جدول 3-1 تغير تراكيز النواتج في عملية الإختمار الكحولي التي تحصل في الخميرة Saccharomyces cerevisiae مع تغير الرقم الهيدروجيني لمحلول الركيزة (كلوكوز).

جدول 3-2 نوانج الإختمار لثلاثة أنواع مهمة صناعياً من الكلوستريديوم Clostridium.

- جدول 3-3 التوازن الاختماري لبعض أنواع البكتريا
- جدول 4-3 الركائز المستخدمة من قبل بكتريا الميثان في الإختمار المنتج للميثان.
- جدول 5-3 الجزئيات الناقلة للإلكترونات في السلسلة التنفسية وجهود اختزالها القياسية (E^0).
- جدول 6-3 عدد جزيئات ال ATP الناتجة عن تحلل السكر Glycolysis والتنفس لكل جزيئة كلوكوز.
- جدول 7-3 صفات بعض أملاح السترات
- جدول 8-3 الأحماض العضوية التي تنتجها الأحياء المجهرية في الإختمار الهوائي.
- جدول 9-3 تخصص الأنزيمات polyol dehydrogenase ومصادرها وتركيب الركائز التي تعمل عليها.
- جدول 1-4 تركيب الحوامض الدهنية الشائعة
- جدول 2-4 بعض الشحوم الامفيباثية
- جدول 3-4 تركيب بعض البروتينات الشحمية
- جدول 4-4 قيم HLB (نسبة الخاصية المحبة للماء إلى الخاصية الكارهة للماء لعوامل الإستحلاب.

المصطلحات العربية

A

الموقع النشط Active site

نشاط ، فاعلية ، فعالية activity

اسيل acyl

ادينوسين Adenosine

النسيج الدهني Adipose tissue

هوائي Aerobic

الدهيد aldehyde

متناوب alternate

متقابل Amphibibolic

اميلاز amylase

ابتاء Anabolism

لاهوائي Anaerobic

مضاهي Analogous

انومر anomer

صميم الأنزيم Apoenzyme

اسبارجين Asparagines

لاتناظر asymmetry

موصدة Autoclave

ذاتية الاغذاء autotrophic

B

عصيات Bacilli

عائية الجراثيم Bacteriophage

تخليق biosynthesis

انحلال breakdown

دارىء buffer

C

كلستونين Calcitonin

كربكسلة Carboxylation

كربوكسي ببتيداز Carboxypeptidase

تقويض catobolism

كاتالاز catalase

تحفيز catalysis

خلاية chelate

كروماتين Chromation

Chylomicrons كليوميكرونات

cis مقرون

cleave يشطر

Coenzyme تميم الأنزيم

Cofactor تميم العامل

Configuration شاكلة

Cconformation هيئة

conjugated مقترن

Conjugated proteins البروتينات المقترنة

contractile قلووص

Conventions اصطلاحات

convulsions اختلاجات

culture مستتبت

Cysteine سستين

cystine سستين

Cytidine سيتدين

cytosine سيوزين

D

Decarboxylase فارغة الكربوكسيل

Decarboxylation نزع الكربوكسيل

تفكك	decomposition
تكوص	degradation
تجفاف	Dehydration
نازع الهيدروجين	Dehydrogenase
نزع الهيدروجين	Dehydrogenation
تمسخ	denaturation
ديوكسي ريبونوكلياز	Deoxyribon clease
الحمض النووي الديوكسي ريبوني	Deoxyribonucleotide
ديوكسي ريبوكليوتيد	dihydroxyacctone
دائي ببتداز	dipeptidase
ثنائي الاستقطاب	dipolar
ثنائي السكريد	disaccharide
تقارق	dissociation
مانح	Donor
قناة	Duct
مزدوج	Duplex
قزامة	dwarfism

E

وذمة	Emema
رحلان كهربائي	Electrophoresis

إطراح	elimination
استحلاب	Emulsification
مستحلب	emulsifier
مستحلب	emulsion
مستهلك للطاقة	Endergonic
الشبكة الهيولية الباطنية	Endoplasmic reticulum
يعزز	enhance
انتروكيناز	Enterokinase
أنزيم	enzyme
إييمر	Epimer
ظهاري	Epithelial
توازن	Equilibrium
استراز	esterase
حقيقية النواة	Eucaryote
يطور	evolve
استثارية	Excitability
إفراغ	excretion
مطلق للطاقة	Exergonic
خارج الخلايا	Extracellular
انطفائية	extinction

F

دهن Fat

دهني Fatty

تلقيم راجع Feed back

اختمار Fermentation

وظيفي fuctional

فطريات fungi

G

كلاكتوز Galactose

معدى - معوي Gastrointestinal

جيل generation

كلوبلين globulin

مكون للكلوكوز Glucogenic

استحداث السكر Gluconeogenesis

كلوكوز glucose

كلونامات Glutamate

كاسر الدهيد Glyceraldehydes

كلسرول glycerol

كليسين glycine

تكون الكليكوجين Glycogenesis

glycolipids	شعوم سكرية
glycolysis	تحلل السكر
Glycoproteins	بروتينات سكرية
glycoside	كاليكلوزيد
guanosine	كوانوسين

H

Heteropolysaccharide	متغاير عديد السكريد
heterotrophic	غيرية الإغذاء
heterotropic	غير متجانس
histones	هسونات
Holoenzyme	الأنزيم التام
homotropic	متجانس
hydrocarbon	هيدروكربون
hydrolase	هيدرولاز
hydrolysis	حلمهة أو تحلل المائي
Hydrophilic	الياف الماء
Hydrophobic	كاره الماء
Hydrphalamus	الوطاء
Hydroxylatison	هيدروكسلة

I

غير نفوذ	impermeable
دفعة	impulse
اندماج	Incorporation
يحرّض	induce
خمج	Infection
اعلامي	Informational
مثبط	inhibitor
يزرق	inject
انيولسن	Insulin
طور بيني	Inter face
تأثر	interaction
وسيطي	intermediary
النبيت الجرثومي المعوي	Intestinal flora
اللمعة المعوية	Intestinal lumen
في الزجاج	In vitro
في الحي	In vivo
تساوي التكهرب	isoelectric
نقطة تساوي التكهرب	Isoelectric point
ايزوانزيم	isoenzyme

Isoionic ايزو أيوني

isomer ايزو (سابقة)، زمير

Isomerase ايزومراز

Isomerism تزامر

Isomerization مزامرة

K

Kinase كيناز

Ketogenic مولد الكتيون

L

Labeled موسوم

Lactate لاکتات

Lactation در اللبن

almellar صفاحي

layer طبقة

Ligase ليغاز

Linear خطي

Lipase ليباز

lipids شحميات

Lipoproteins بروتينات شحمية

lumen لمعة

لياز Lyase

لمفي Lymphoid

الليسوزوم lysosome

ليسوزيم lysozyme

M

مالتوز Maltose

ثديي Mammary

مطرق matrix

آلية Mechanism

وسيط mediator

ايضي Metabolic

مئيضة Metabolite

مثيونين Methionine

مذيلة micelle

جرثومي Microbial

مايتوكوندرية Mitochondria

تحريك Mobilization

جزء moiety

أحادي النيوكليوتيد Mononucleotide

أحادي السكريد monosaccharide

Mucopolysaccharide عديد السكريد المخاطي

mutatns طوافر

mucosa مخاطي

Mycobacteria البكتريا المتفطرة

mycoplasma المفطورة

mylein ميلين

N

Nonpolar غير قطبي

Notation مجموعة رموز

nucleoplasm الجبلة النووية

O

Oil زيت

Oleic acid حمض الأوليك

oligomer قليل الوحدات

Oligopeptide قليل الببتيد

Oligosaccharide قليل السكريد

optical بصري

Optimum امثل

oxidase , اكسيداز

Oxidative تأكسدي

Oxidative phosphorylation الفسفرة التأكسدية

oxidoreductase أنزيم الأكسدة المرجعة

P

Parent أبوي

Pathogenic ممرض

pathological مرضي

pathway مسلك

pepsin ببسين

Pepsinogen ببسينوجين

peptidase ببتيداز

Permeable نقيذ

Permeability نفيذية

pernicious وييل

Pernicious anemia فقر الدم الوييل

Perpective represontation التمثيل المتطوري

PH الرقم الهيدروجيني

Phospholipids فسفاتاز

Phospholipids الشحوم الفسفاتية

Phosphorylation فسفرة

صبغ	pioments
بوليمراز	Polymorase
بوليمراز	Polymerase
بوليمر	polymer
عديد الببتيد	Polypoptide
عديد السكريد	Polysaccharide
الوريد البابي	Portat voin
سلف	precursor
بدائي	primitive
استقاطي	Projection
بدائي النواة	procaryote
بولكتين	prolactin
يعزز	promote
محضض	Promoter
بروستاكلاندين	Prostaglandin
ضميم	prosthetic
المجموعة الضميمة	Prosthetic group
الشحوم البروتينية	proteolipids
سلف الفيتامين	provitamin
بايرنوز	pyranose

بيروفوسفات pyrophosphate

بريميدين pyrimidine

كيناز البيروفات Pyruvate kinase

R

رزيمي Racemic

مستقبل، متقبل Receptor

أكسدة مرجعة redox

منظم Regulator

ثمالة residue

ارتشاف Resorption

انعكاس reversal

عكوس Reverible

ريبونوكلياز Ribonuclease lease

الحمض النووي الريبي Ribonucleic acid

ريبونوكليوسيد ribonucleoside

ريبوز ribose

رايبوسوم Ribosome

كساح rickets

S

صوينة	Saponification
نصف (سابقة)	semi
غمد	Sheath
تحويل	shunt
سوريت	Soret
نوع	Species
نوعي	Specific
نوعية، خصوصية	Specificity
الشحوم السفنغولية	Sphingolipids
محصمة	starvation
فراغي	stereo
الكيمياء الفراغية	Stereochemistry
التزامر الفراغي	steroisomerism
سترويد	steroid
ينبه، يثير	Stimulate
سلسلة	strand
عقدي	Streptococcal
بنية، تركيب	structure
بنائي، تركيب	Structural

Inv:1986

Date:15/2/2015

الكيمياء الحياتية التطبيقية

الكيمياء الحياتية التطبيقية



أ.د. دلاور محمد صابر أ.د. ميسون بشير رسام

جامعة صلاح الدين جامعة صلاح الدين
كلية العلوم كلية العلوم

تقديم: أ.د. محمد سليمان مبارك

الجامعة الأردنية
كلية العلوم



www.dardjlah.com

دار دجلة
ناشرون وموزعون



عمان - شارع الملك حسين - مجمع الفحيحيل

تلفاكس: ٠٠٩٦٢ ٦ ٤٦٤٧٥٥٠ خلوي: ٧١٢٧٧٣

ص ب: ٧١٢٧٧٣ عمان ١١١٧١ - الأردن

بغداد - شارع السعدون - عمارة فاطمة

تلفاكس: ٠٠٩٦٤ ١ ٨١٧٠٧٩٢ خلوي: ٣٠٠٠٠٠٠

dardjlah@yahoo.com

www.dardjlah.com

Bibliotheca Alexandrina



1241648

ISBN 9957-71-205-5



9 789957 712051 >